云 南 植 物 研 究 2010, 32(3): 189～203
Acta Botanica Yunnanica DOI: 10.3724/SP.J.1143.2010.10004

# 美洲鳄梨属植物的叶表皮微形态特征及其分类学意义*

郭莉娟[1,2]，王志华[1,2]，李 捷[1**]
(1 中国科学院西双版纳热带植物园，云南 昆明 650223；2 中国科学院研究生院，北京 100049)

**摘要**：在光学显微镜下，对美洲鳄梨属54种植物的叶表皮微形态特征进行了观察，研究发现叶表皮细胞形状多为规则形；垂周壁一般平直；大多数种类的叶表皮具均匀分布的单细胞毛状体；平列型气孔器下生，随机分布于网状叶隙内，可进一步分为3个小类；形态相似的物种通常具有相似的叶表皮特征。本研究选取了19个特征进行PCA分析，发现鳄梨属被明显分为2个支系。叶表皮特征在种内比较稳定，种间存在一定差异，表皮细胞形状、气孔器形态及其突出物等特征组合对于鳄梨属种尤其一些表型相似的种类的鉴定有一定的帮助。

**关键词**：美洲；鳄梨属；叶表皮；微形态特征
**中图分类号**：Q 944 **文献标识码**：A **文章编号**：0253-2700(2010)03-189-15

# Micro-morphological Characteristics of Leaf Epidermis under Light Microscopy and Its Taxonomic Significance in *Persea* (Lauraceae) from America

GUO Li-Juan[1,2], WANG Zhi-Hua[1,2], LI Jie[1**]
(1 *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650223, China;
2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China)

**Abstract**: Leaf epidermal micro-morphological characters of 54 species belonging to genus *Persea* (Lauraceae) from America were comparatively studied by the means of light microscopy. It was shown that the leaf epidermal cells were usually regular bearing with straight or beaded anticlinal walls. Most of these species had unicellular trichomes uniformly distributed. The stomatal apparatus which were paracytic, only randomly presented in the areoles of abaxial epidermis for all sampled species, can be assigned into three types. The results showed that similar leaf epidermal characters can be found in the species with similar morphology. Nineteen characters were selected for PCA analysis, and the sampled species was divided into two clades. The characters of leaf epidermis were little different within a species but can vary among species. However, the multiple leaf epidermal characters including the shape of epidermal cells, the shape of stomatal apparatus, stomatal ledges and some distinct characters were relatively constant and taxonomically quite useful for the identification of some species with similar phenotypes.

**Key words**: America; *Persea*; Leaf epidermis; Micro-morphological characteristics

以热带水果鳄梨 *Persea americana* Mill. 而著名的鳄梨属 *Persea* Mill. 是樟科（Lauraceae）植物的重要组成部分，约有90个种，主要分布于新世界热带美洲，仅 *Persea indica*（L.）

* 基金项目：国家自然科学基金（30870170）和中科院植物园和生物分类学研究项目（KSCX2-YW-Z-001）
** 通讯作者：Author for correspondence; E-mail: jieli@xtbg.ac.cn
收稿日期：2010-01-06，2010-03-31 接受发表
作者简介：郭莉娟（1986—）女，在读硕士研究生，主要从事植物系统与保护生物学研究。

Spreng. 一种产于非洲（Rowher 等，2009）。

Kopp（1966）将新世界热带分布的鳄梨属分为 *Persea* subg. *Persea* 和 *Persea* subg. *Eriodaphne* Nees 两个亚属。*Persea* subg. *Persea* 包括的种类有：*P. schiedeana* Nees、*P. steyermarkii* C. K. Allen、*P. floccose* Mez 和 *P. americana* Mill. 及其两变种 *P. americana* var. *drymifolia*（Schltdl. & Cham.）S. F. Blake、*P. americana* var. *nubigena*（L. O. Williams）L. E. Kopp，这些种类两轮花被片等大或近等大，被片两面具毛，在花期卷曲，果期常从基部凋落，四室雄蕊，第三轮雄蕊基部有具柄腺体，雌蕊被毛；*Persea* subg. *Eriodaphne*（剩下的种）花被片不等大，外轮花被片内表面光滑（但 *P. rigens* C. K. Allen 花被片两面具毛），常不及内轮花被片 1/2 长，果期宿存，雄蕊药室数目可变（0，2 或 4），无柄腺体位于花丝基部，雌蕊光滑或被毛。但同时鳄梨属一些过渡种类的存在使两亚属之间的界限有些模糊，如 *P. pallida*（Nees）Oliv.、*P. rigens*、*P. albida* Kosterm.、*P. steyermarkii* 和 *P. sylvatica* van der Werff 花被片等大，却在果期宿存；*P. julianae* van der Werff 花被片不等大却在果期脱落（Kopp，1966；van der Werff，2002）。此外，Ben-Ya′acov（1995）依据 *P. schiedeana* 的叶、枝为纤维质地，花序橙黄色将其作为一个组，而鳄梨亚属的其它成员组成另一组。

Williams（1977）曾将 *P. parvifolia* L. Wms.、*P. guatemalensis* L. Wms.、*P. primatogena* Williams & Molina 归入 *Persea* subg. *Persea*，后来 Rojas 等（2007）又将 *P. tolimanensis* Schieber、*P. gigantea* L. Wms. 和 *P. zentmyerii* Schieber & Berg 也归入 *Persea* subg. *Persea*，但 van der Werff（2002）指出 *P. tolimanensis* 和 *P. zentmyerii* 是不合法的名称；Mhameed 等（1997）将 *P. indica*、*P. longipes*（Schi.）Meissn. 和 *P. cinerascens* Blake 归入了 *P. drymifolia*（*Persea* subg. *Persea*），而 Rohwer 等（2009）的研究结果表明 *P. indica* 属于 *Persea* subg. *Eriodaphne*。Kostermans（1993）认为 *Persea* subg. *Eriodaphne* 应另立为一属即 *Mutisiopersea*，van der Werff（2002）并不同意 Kostermans 这一处理，但 Rohwer 等（2009）支持这一观点。Rojas 等（2007）认为 *Persea* subg. *Persea* 和 *Persea* subg. *Eriodaphne* 应为独立的两个属。近期研究结果（Rojas 等，2007；Rohwer 等，2009；陈俊秋等，2009）表明鳄梨属是一个多系类群，其内部的系统学关系及类群间的界限较为模糊。

Christophel and Rowett（1996）对澳大利亚产樟科 11 个属 70 多种植物叶表皮微形态特征进行了观察，结果表明叶表皮特征对樟科的属种分类很有价值，尽管他们的取样物种只代表樟科的小部分，也缺乏显著的特征来分离它们，但为后续深入开展樟科叶表皮研究提供了依据。Nishida and van der Werff（2007）研究了樟科琼楠属（*Beilschmiedia* Nees）、厚壳桂属（*Cryptocarya* R. Br.）、*Potameia* Thouars 和 *Aspidostemon* Rohwer & H. G. Richt. 共 38 个种的叶表皮特征，进一步确定了叶表皮特征在解决了解甚少的问题种和具不止一个属典型特征的疑难种的归属上是很有潜力的。叶表皮特征还被应用于解决土楠属（*Endiandra* R. Br.）、檬果樟属（*Caryodaphnopsis* Airy Shaw）、木姜子属复合群（*Litsea* complex Lam.）和润楠属（*Machilus* Rumph. ex Nees）等类群的系统学问题（Christophel 等，1996；Nishida and Christophel，1999；Li and Christophel，2000；Zhuang 等，2002）。到目前为止，虽然 *Persea borbonia*（L.）Spreng. 的气孔器（Edwards，1989）和 *Persea americana* 的叶表皮特征（Kamel and Loutfy，2001）曾经有过研究报道，但对鳄梨属叶表皮特征较为全面的对比研究工作尚未开展。本研究试图通过对 54 种鳄梨属植物叶表皮特征的观察和分析，为鳄梨属以及樟科积累叶表皮微形态学基础资料，探讨其对鳄梨属植物的分类学意义，为进一步深入研究樟科近缘属间亲缘关系提供证据。

## 1 材料和方法

本研究实验材料为美国密苏里植物园标本馆（Missouri Botanical Garden，USA；MO）提供的鳄梨属 54 个物种的叶片标本（约占鳄梨属 60% 种类），其中仅鳄梨为中国引种（原产地是美洲），其它均采自美洲（图 1），具体凭证标本信息见表 1。

实验参考 Christophel 等（1996）的方法，将材料制成玻片后用 Olympus BX51 光学显微镜在 100 倍油镜视野下观察。为确定在光学显微镜下叶表皮特征的一致性，每个种取 2 枚以上来自不同地点的样品叶片。综合 Hill（1986）、Christophel and Rowett（1996）、Nishida and Christophel（1999）、Li and Christophel（2000）、Li 等（2004）和 Nishida and van der Werff（2007）进行樟科叶表皮研究时使用的特征，本研究主要记录的叶表皮特征见表 2。气孔器方面的术语基于 Dilcher（1974）的研究，其他特征的术语则按照 Wilkinson（1979）的分类标准。

在数据处理前进行以下计算（Franco，1939；Wilkinson，1979）：气孔器指数 I＝S/(E＋S)，其中 S 是单位视野气孔数，E 是该单位视野普通表皮细胞数；毛状体指数的计算参照气孔器指数。将定性特征进行数字编码，代表性状状态的数字没有进化含义，定量特征取平均值。建立观测数据矩阵后（表 2），用 SAS9.0（SAS Institute，Cary，NC，USA）进行主成分分析（PCA）和聚类分析 Cluster（ward）。

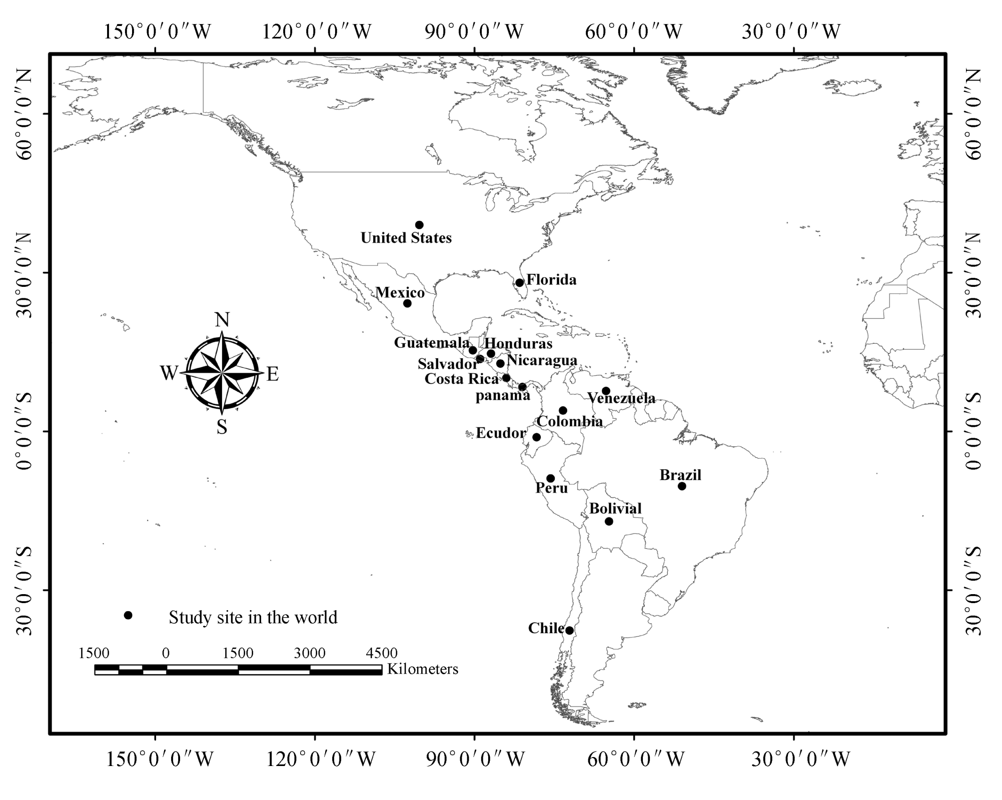



图 1　鳄梨属植物的采集地点

Fig. 1　Map showing locations of *Persea* species examined

**表1　实验材料及凭证标本**（按 Kopp，1966 年分类系统）

Table 1　Vouchers of *Persea* species examined in the study according to Kopp's system (1966)

| 种名 Species | 凭证标本 Vouchers | 采集地 Location |
|---|---|---|
| ***Persea* subg. *Persea*：** | | |
| 鳄梨 *Persea americana* Mill. | J. Li（李捷）2002001 | 中国云南版纳植物园 XTBG，Yunnan，China |
| 鳄梨 *Persea americana* Mill. | J. S. Zhong（钟晋顺）2006095 | 中国云南版纳植物园 XTBG，Yunnan，China |
| *Persea schiedeana* Nees | J. F. Morales 222 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea schiedeana* Nees | J. F. Morales 2173 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| ***Persea* subg. *Eriodaphne* Nees：** | | |
| *Persea alba* Nees | G. Hafschbach 59099 | 巴拿马 Panama |
| *Persea alba* Nees | M. Borgo & R. M. Britez 2165 | 美国 USA |
| *Persea aurata* Miq. | B. M. T. Walter 2. 123 | 巴西 Brazil |

续表1

| 种名 Species | 凭证标本 Vouchers | 采集地 Location |
|---|---|---|
| *Persea aurata* Miq. | D. A. Folli 4075 | 巴西 Brazil |
| *Persea boldufolia* Mez | H. van der Werff 14972 | 秘鲁 Peru |
| *Persea boldufolia* Mez | H. van der Werff 15086 | 秘鲁 Peru |
| *Persea borbonia* (L.) Spreng. | A. Bradley & J. Stone 127 | 美国 USA |
| *Persea borbonia* (L.) Spreng. | John Stone & Adam Bradley 3414 | 美国 USA |
| *Persea brenesii* Standl. | Gerardo Rivera 1358 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea brenesii* Standl. | J. F. Morales 2238 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea brevipes* Meisn. | P. M. Jorgensen 445 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea brevipes* Meisn. | G. P. Lewis 2921 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea brevipes* Meisn. | B. Ollgard 90536 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea buchtienii* O. C. Schmidt | Marlco Lewis 38025 | 玻利维亚 Bolivia |
| *Persea buchtienii* O. C. Schmidt | M. Nee 42046 | 玻利维亚 Bolivia |
| *Persea bullata* L. E. Kopp | H. van der Werff & M. Palacios 9269 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea bullata* L. E. Kopp | Walter Palacios & M. Tivado 13150 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea chamissonis* Mez | E. Ventura 6767 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea chamissonis* Mez | E. Ventura 6768 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea chrysophylla* L. E. Kopp | Francisco Javier Roldon 2271 | 哥伦比亚 Colombia |
| *Persea chrysophylla* L. E. Kopp | Francisco Javier Roldon 2340 | 哥伦比亚 Colombia |
| *Persea cuneata* Meisn. | J. F. Morales 3020 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea cuneata* Meisn. | Mitton Tirado & B. Gray 894 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea donnell-smithii* Mez | Ronald L. Liesner 26801 | 洪都拉斯 Honduras |
| *Persea donnell-smithii* Mez | Ricardo Rueda 11549 | 尼加拉瓜 Nicaragua |
| *Persea fastigiata* L. E. Kopp | Ronald L. Liesner 17760 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea fastigiata* L. E. Kopp | Ronald L. Liesner 25885 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea ferruginea* Kunth | J. E. Madsen & L. Ellenmann 91017 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea fulva* L. E. Kopp | Wilson Ganev 072 | 巴西 Brazil |
| *Persea fulva* L. E. Kopp | Wilson Ganev 426 | 巴西 Brazil |
| *Persea haenkeana* Mez | A. Fuentes 7370 | 玻利维亚 Bolivia |
| *Persea haenkeana* Mez | J. C. Soloman 9293 | 玻利维亚 Bolivia |
| *Persea hintonii* C. K. Allen | J. Villa & J. Chavezl 568 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea hintonii* C. K. Allen | T. S. Cochran & M. Chazarob 12. 536 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea humilis* Nash | Sae A. Thompson 5181 | 佛罗里达 Florida |
| *Persea humilis* Nash | R. K. Godfrey 79201 | 美国 USA |
| *Persea jenmanii* Mez | A. S. Tavaroes & M. G. Silva 60 | 巴西 Brazil |
| *Persea jenmanii* Mez | Alfredo Chaviel 182 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea liebmannii* Mez | Hiram Rubio 1873 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea liebmannii* Mez | T. Weadt 6775 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea liebmannii* Mez | A. C. Sanders 14382 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea lingue* (Ruiz & Pav.) Nees | C. Aedv7242 | 智利 Chile |
| *Persea lingue* (Ruiz & Pav.) Nees | C. M. Taylor 10358 | 智利 Chile |
| *Persea longipes* (Schltdl.) Meisn. | Heriberto Hernandez G. 2311 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea longipes* (Schltdl.) Meisn. | P. Vera Caletti 175 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea major* (Nees) L. E. Kopp | Nascimento F. H. F. 122 | 巴西 Brazil |
| *Persea major* (Nees) L. E. Kopp | L. C. S. Assis 372 | 巴西 Brazil |
| *Persea meridensis* L. E. Kopp | Santos Miguel Nino 114 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea meridensis* L. E. Kopp | H. van der Werff 7621 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea mutisii* Kunth | Aida Alvavez 1209 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea mutisii* Kunth | J. Campos 5838 | 秘鲁 Peru |
| *Persea obtusifolia* L. E. Kopp | H. van der Werff 14040 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea obtusifolia* L. E. Kopp | Maritza Vega 205 | 巴拿马 Panama |
| *Persea palustris* van der Werff | A. F. Bradley & J. Stone938 | 美国 USA |
| *Persea palustris* van der Werff | James S. Miller 9018 | 美国 USA |
| *Persea palustris* van der Werff | R. Dale Thomas 159. 680 | 美国 USA |
| *Persea peruviana* Nees | Rodolfo Vasquez 6907 | 秘鲁 Peru |
| *Persea peruviana* Nees | H. van der Werff 16514 | 秘鲁 Peru |

**续表1**

| 种名 Species | 凭证标本 Vouchers | 采集地 Location |
|---|---|---|
| *Persea pseudofasciculata* L. E. Kopp | Brad Boyle 3680 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea pseudofasciculata* L. E. Kopp | San Chez-vegal 9947 | 秘鲁 Peru |
| *Persea purpusii* L. E. Kopp | E. Carranza 1022 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea purpusii* L. E. Kopp | E. Carranza 2982 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea rigens* C. K. Allen | William G. Vargas 4036 | 美国 USA |
| *Persea rigens* C. K. Allen | William G. Vargas 3049 | 哥伦比亚 Colombia |
| *Persea rigens* C. K. Allen | Gerardo Herrera 3918 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea rigens* C. K. Allen | Gerardo Herrera 4744 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea rufotomentosa* Nees & C. Mart. | A. E. Brina 39. 263 | 巴西 Brazil |
| *Persea rufotomentosa* Nees & C. Mart. | Marcelo Ferreira de Vasancelos 40. 229 | 巴西 Brazil |
| *Persea ruizii* J. F. Macbr. | James L. Luteyn 13558 | 玻利维亚 Bolivia |
| *Persea ruizii* J. F. Macbr. | St. G. Beck 19955 | 玻利维亚 Bolivia |
| *Persea sericea* Kunth | H. van der Werff 9433 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea sericea* Kunth | G. Harling 13195 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea subcordata* (Ruiz & Pav.) Nees | Homero Vargas 3394 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea subcordata* (Ruiz & Pav.) Nees | W. Galiano 4288 | 秘鲁 Peru |
| *Persea venosa* Nees & Mart. ex Nees | J. R. Stehmann 2658 | 巴西 Brazil |
| *Persea venosa* Nees & Mart. ex Nees | J. A. Lombardi 4970 | 巴西 Brazil |
| *Persea veraguasensis* Seem. | Erick Bello 2692 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea veraguasensis* Seem. | William Haber 10819 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea veraguasensis* Seem. | R. J. Schmalzelx 48 | 巴拿马 Panama |
| *Persea veraguasensis* Seem. | D. W. Roubik 943 | 萨尔瓦多 Salvador |
| *Persea vesticula* Standl. & Steyerm. | Thomas Hawkins 918 | 洪都拉斯 Honduras |
| *Persea vesticula* Standl. & Steyerm. | R. A. Carballo 346 | 萨尔瓦多 Salvador |
| **未知：** | | |
| *Persea albida* Kosterm. | William Burger 12182 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea albida* Kosterm. | Majia Dario 54 | 洪都拉斯 Honduras |
| *Persea albiramea* van der Werff | Karsten Thomsen 491 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea albiramea* van der Werff | Gerardo Herrera 4980 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea areolatocostae* (C. K. Allen) van der Werff | Wilson Quizhpe 208 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea areolatocostae* (C. K. Allen) van der Werff | H. van der Werff 16459 | 秘鲁 Peru |
| *Persea brevipetiolata* van der Werff | Tom Wenolf 3252 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea brevipetiolata* van der Werff | Tom Wenolf et al. 4794 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea fluviatilis* van der Werff | Paul E. Berry 5618 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea fluviatilis* van der Werff | Paul E. Berry & Judith Rosales 6388 | 委内瑞拉 Venezuela |
| *Persea laevifolia* van der Werff | H. van der Werff 14045 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea laevifolia* van der Werff | Barry Hammel 17334 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea laevigata* Kunth | Al Gentry 76329 | 哥伦比亚 Colombia |
| *Persea laevigata* Kunth | Jose L. Linares 5213 | 洪都拉斯 Honduras |
| *Persea nudigemma* van der Werff | Walter Palacio & C. Iguago 4587 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea nudigemma* van der Werff | H. van der Werff 19209 | 厄瓜多尔 Ecuador |
| *Persea obscura* Lorea-Hern. | Saloman Moya J. 2465 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea obscura* Lorea-Hern. | Heriberto Hernandez G. 2659 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea pajonalis* van der Werff | A. Monteagado 4581 | 秘鲁 Peru |
| *Persea pajonalis* van der Werff | R. Vasquez 27793 | 秘鲁 Peru |
| *Persea pallescens* (Mez) Lorea-Hern. | C. L. Lundell 19222 | 危地马拉 Guatemala |
| *Persea pallescens* (Mez) Lorea-Hern. | C. L. Lundell 201910 | 危地马拉 Guatemala |
| *Persea pallescens* (Mez) Lorea-Hern. | Rafael Torres L. 10429 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea pallescens* (Mez) Lorea-Hern. | Jose Rivera Reyes 1761 | 墨西哥 Mexico |
| *Persea perseiphylla* (C. K. Allen) van der Werff | Santiago Madrinan & Cesar Barbosa 863 | 哥伦比亚 Colombia |
| *Persea perseiphylla* (C. K. Allen) van der Werff | Santiago Madrinan & Cesar Barbosa 901 | 哥伦比亚 Colombia |
| *Persea povedae* W. C. Burger | Evick Bello 121 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea povedae* W. C. Burger | Nelson Zamora 1842 | 哥斯达黎加 Costa Rica |
| *Persea willdenovii* Kosterm. | Nascimento F. H. T. 80 | 巴西 Brazil |
| *Persea willdenovii* Kosterm. | J. M. Silva 2291 | 巴西 Brazil |

## 2 结果

### 2.1 光镜下叶表皮微形态特征

2.1.1 *表皮细胞* 鳄梨属种的叶脉区域表皮细胞比非叶脉区域细胞排列规则且较长和窄，常为多边形，本研究观察的均是非叶脉区域的表皮细胞特征。鳄梨属植物上下表皮细胞特征不一致，如表皮细胞的大小和形状、垂周壁的加厚方式等。

鳄梨属植物表皮细胞平周壁的特征有光滑（smooth，Plate Ⅰ：1）、颗粒状（granulate，Plate Ⅰ：2）、条纹状（striate，Plate Ⅰ：3）和乳突状（papillate）4种类型，若为乳突状，常每个表皮细胞上方有一个突起（Plate Ⅰ：4）；鳄梨属表皮细胞平周壁大多光滑，仅 *P. albiramea* van der Werff、*P. americana*、*P. bullata* L. E. Kopp 和 *P. pallescens*（Mez）Lorea-Hern. 的叶下表皮细胞呈颗粒状；*P. hintonii* C. K. Allen 和 *P. veraguasensis* Seem. 的叶上表皮细胞平周壁呈条纹状；*P. chrysophylla* L. E. Kopp、*P. cuneata* Meisn.、*P. povedae* W. C. Burger 和 *P. subcordata*（Ruiz & Pav.）Nees 的叶下表皮细胞平周壁为乳突状。

鳄梨属植物表皮细胞垂周壁的加厚方式有平直（straight，Plate Ⅰ：5）、念珠状（beaded，Plate Ⅰ：6）和板状（buttressed，Plate Ⅰ：7）3种，念珠状加厚是垂周壁有规律地加厚，而板状型指在表皮细胞边的凹槽处加厚而使细胞外形似深波状；*P. americana* 和 *P. pallescens* 下表皮细胞垂周壁为念珠状加厚；*P. peruviana* Nees 下表皮垂周壁为板状加厚，其它物种均为平直式加厚。此外，垂周壁厚度在属内种间变化较大，如 *P. brevipetiolata* van der Werff 的上表皮细胞垂周壁比较厚（约5.54 μm，Plate Ⅱ：11），而 *P. obscura* Lorea-Hern. 的垂周壁很薄（0.41 μm，Plate Ⅱ：12）；*P. pseudofasciculata* L. E. Kopp 的下表皮垂周壁比较厚（约2.39 μm，Plate Ⅱ：13），而 *P. jenmanii* Mez 的垂周壁很薄（0.39 μm，Plate Ⅱ：14）。同一物种上下表皮细胞的垂周壁厚度不一致，但大多数种在同一表面的垂周壁厚度一致，仅 *P. pseudofasciculata*（Plate Ⅱ：13）上表皮垂周壁厚度极不一致。

叶表皮细胞形状大致可分为多边型（polygonal）和不规则型（irregular）两种类型。依据垂周壁的式样和波状起伏程度，多边型可进一步分为圆形（rounded，Plate Ⅰ：8）和有角的形状（angular，Plate Ⅰ：9）；不规则型分为浅波状（undulate，Plate Ⅱ：10）和深波状（sinuous，Plate Ⅱ：11），浅波状指表皮细胞每条边有一个突起和凹槽，而深波状每条边则不止一个突起和凹槽。

在所研究的材料中，上表皮细胞可长达36.09 μm（*P. areolatocostae*（C. K. Allen）van der Werff），也可短至14.93 μm（*P. vesticula* Standl. & Steyerm.）；较宽的可达25.89 μm（*P. areolatocostae*），较窄的仅8.61 μm（*P. brevipetiolata*）。下表皮细胞长度为15.42 μm（*P. brevipes* Meisn.）至34.11 μm（*P. americana*）不等，宽度范围约为9.13 μm（*P. aurata* Miq.）至17.67 μm（*P. albiramea*）。鳄梨属表皮细胞间结合大多是紧密的，只有少数种细胞间隙较大，如 *P. brevipetiolata* 的上表皮细胞（Plate Ⅱ：11）。

2.1.2 *毛状体* 鳄梨属植物的毛都是单细胞单孔（Plate Ⅱ：16），毛状体特征在同一种内较稳定，但在属内种间的变化没有明显的分类学价值。有的种上下表皮均无毛或具毛，有的上表皮无毛但下表皮有毛，未见上表皮有毛而下表皮无毛的情况；若有毛状体，则在脉和网眼空隙均存在，同一物种内毛状体长短不一致。

在研究中发现有些种仅可见毛状体基部，可能是由于毛状体在发育过程中凋落或在实验处理时被除去，如 *P. veraguasensis* 上表皮的毛状体（Plate Ⅰ：3），上表皮的毛更易脱落。上表皮毛状体基部孔直径较大的有 *P. major*（Nees）L. E. Kopp（18.68 μm）和 *P. brevipes*（18.22 μm），下表皮毛基孔径较大的有 *P. borbonia*（18.38 μm）、*P. chamissonis* Mez（17.51 μm）和 *P. major*（17.19 μm）。

毛状体基部围绕细胞数常为6个左右，有的种较多，如 *P. vesticula* 上表皮毛基部围绕细胞可多达10个，*P. lingue*（Ruiz & Pav.）Nees、*P. palustris* van der Werff 和 *P. chamissonis* 下表皮毛基部围绕细胞可达11个。毛状体指数最高的是 *P. perseiphylla*（C. K. Allen）van der Werff（34.653%）和 *P. jenmanii*（34.536%）。

2.1.3 *气孔器* 鳄梨属植物的气孔下生，即只分布在叶远轴面，2个副卫细胞平列型排列，保卫细胞下陷，副卫细胞看起来像保卫细胞，与Christophel 等（1996）的研究结果一致。气孔

器均匀分布在网眼空隙内，长轴相对于叶脉方向随机，在叶脉区域未见气孔。

鳄梨属植物的平列型气孔器可进一步大致分为 3 种类型：Ⅰ. 副卫细胞染色浅，呈透明状（Plate Ⅱ：17）；Ⅱ. 副卫细胞染色深，气孔开口较大，使中间区域染色浅（Plate Ⅱ：18）；Ⅲ. 副卫细胞颜色深，气孔开口小，使气孔全呈深色（Plate Ⅲ：19）；鳄梨属植物大多具Ⅱ、Ⅲ类气孔。鳄梨属植物的气孔突出物形状有直且薄型（straight and thin，Plate Ⅱ：17）和蝴蝶型（butterfly-shaped，Plate Ⅲ：20）两种，大部分物种为直且薄型。

鳄梨属有些种存在气孔极杆（Polar rod，Plate Ⅰ：4），但这一特征在不同微距下和同一物种不同气孔中观察的结果不同，存在较大的人为因素。大部分气孔与表皮细胞水平，只有 *P. areolatocostae* 的气孔下陷（Plate Ⅰ：8）。有的气孔旁有一对表皮细胞，可能是气孔的一部分，如 *P. obscura*（Plate Ⅲ：20）。气孔器周围细胞数常为 6 个左右，*P. obscura* 和 *P. rigens* 最多达到了 10 个。气孔器的大小和指数因种而异，*P. obscura*（33.02 μm）、*P. rigens*（32.64 μm）和 *P. brevipetiolata*（32.52 μm）的气孔较长，*P. lingue*（23.54 μm）和 *P. obscura*（22.34 μm）的气孔较宽，气孔器指数最大的是 *P. americana*（29.474%）、*P. rigens*（27.179%）和 *P. buchtienii* O. C. Schmidt（25.137%）。

2.1.4　其它　鳄梨属有些种的叶表皮具分泌细胞（secretory cell，Plate Ⅲ：21）和发育不完全的气孔器（undeveloped stomata，Plate Ⅲ：22），分泌细胞分布在远轴面，常为圆形，染色浅，看起来像发亮的细胞，由几个普通表皮细胞辐射状围绕而成；发育不完全的气孔器看似气孔，实质是由 4 个普通表皮细胞排列成气孔的形状，随机分布。

## 2.2　统计学分析结果

通过将较确定的不同特征进行组合，发现对其中 19 个特征组合分析的结果较稳定（表 2）。主成分分析（PCA）的结果表明鳄梨属被分为两个明显的分支（图 2），*Persea* subg. *Persea* 中的成员 *P. americana*、*P. schiedeana* 与 *P. albiramea*、*P. laevifolia* van der Werff、*P. areolatocostae*、*P. willdenovii* Kosterm.、*P. pallescens*、*P. laevigata* Kunth、*P. fluviatilis* van der Werff、*P. nudigemma* van der Werff、*P. povedae*、*P. bullata*、*P. cuneata* 和 *P. venosa* Nees & Mart. ex Nees 14 个种共同组成一小的分支，剩下的 40 个种组成一大分支。

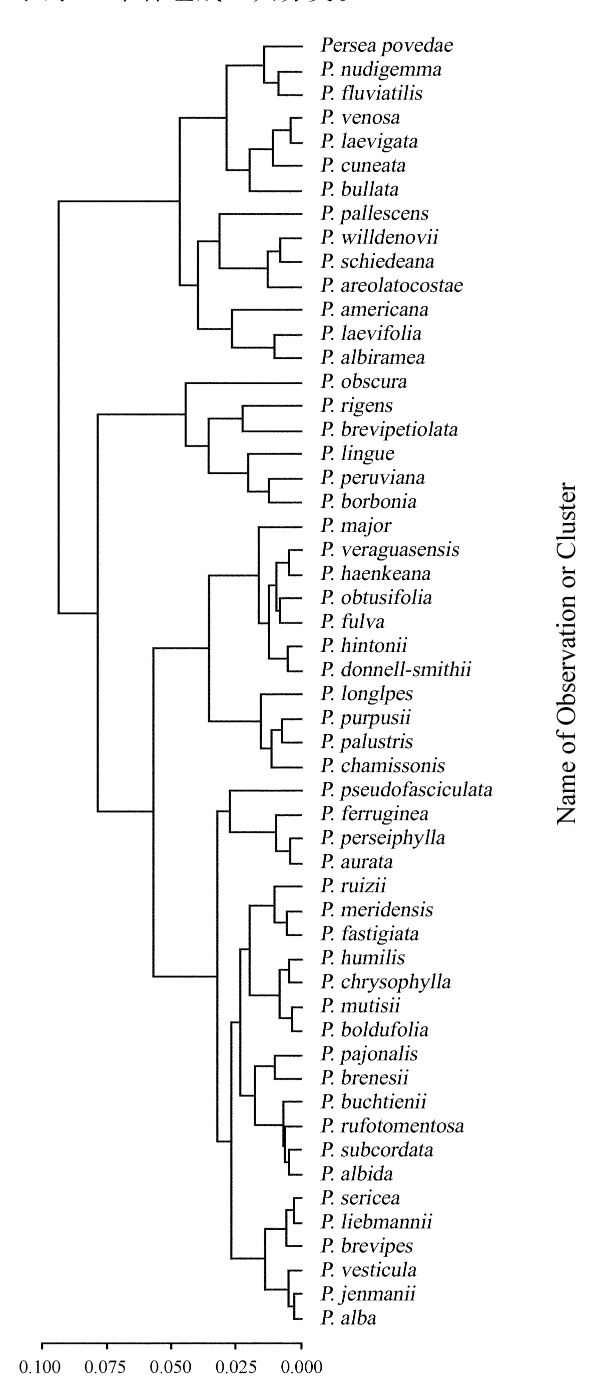



图 2　鳄梨属种基于叶表皮微形态特征的 PCA 聚类图

Fig. 2　PCA and cluster results based on leaf epidermal micromorphological characters of *Persea*

# 3 讨论

## 3.1 鳄梨属内及其与其它属植物叶表皮微形态特征比较

鳄梨属叶表皮特征在种内变化不大，种间有一定差异，形态学特征相似的种有着基本一致的叶表皮特征，如 *P. povedae*（2室雄蕊）和 *P. cuneata*（4室雄蕊）植物形态相似（van der Werff，2002），其叶表皮特征也较为相似；*P. donnell-smithii* Mez、*P. chamissonis* 小枝和叶下表面密被直立的毛，本研究发现它们的叶表皮特征也相似，支持 van der Werff（2002）认为它们可能是同一种的观点。*P. albiramea* 和 *P. laevifolia* 的叶在枝条顶端簇生，叶上表面的三级脉下陷（大部分鳄梨属种是凸起的），下表面光滑，花被片小（不超过3 mm），等大或近等大，果期脱落或宿存，若宿存（*P. albiramea*），被片小而位于果实基部；若脱落（*P. laevifolia*），被片在基部联合，和雄蕊一起整体脱落（van der Werff，2002），本研究中二者叶表皮特征很相似而聚成一个小支（图2）。

鳄梨属和樟科其它属的特征交错复杂，鳄梨属、*Acrodiclidium* Nees & Mart.、*Endlicheria* Nees、*Nectandra* Rol. ex Rottb.、*Tetradenia* Benth.、黄肉楠属（*Actinodaphne* Nees）、*Aniba* Aubl.、楠属（*Phoebe* Nees）、木姜子属、土楠属、樟属（*Cinnamomum* Schaeff.）、厚壳桂属、琼楠属、檬果樟属、赛楠属（*Nothaphoebe* Blume）和润楠属某些种的叶下表皮细胞呈乳突状；鳄梨属、*Apollonias* Nees、新木姜子属（*Neolitsea*（Benth.）Merr.）、檬果樟属、润楠属、油丹属（*Alseodaphne* Nees）、楠属、莲桂属（*Dehaasia* Blume）一些种的叶表皮细胞为颗粒状；鳄梨属、润楠属、樟属的叶上表皮细胞常为深波状；鳄梨属、赛楠属、润楠属、楠属、琼楠属、厚壳桂属、*Aspidostemon* 和 *Potameia* 中有的种类叶表皮细胞垂周壁为念珠状（Wilkinson，1979；Kamel and Loutfy，2001）。Li and Christophel（2000）的研究表明大部分种的气孔和普通表皮细胞同处一水平，而黑壳楠（*Lindera megaphylla* Hemsl.）和四川山胡椒（*L. setchuenensis* Gamble）的气孔下陷，本研究中 *Persea areolatocostae* 的气孔也下陷。琼楠属、闽楠（*Phoebe bournei*（Hemsl.）Yang）的副卫细胞大小不等（Christophel 等，1996），*Persea fluviatilis* 的副卫细胞也是如此。樟科远缘属种间叶表皮特征的相似性可能是遗传和对相似环境适应的趋同作用结果，表皮细胞更大、毛多、条纹状表面、高气孔密度和气孔下陷等特征有助于减少水分蒸腾，是适应干旱环境的特征（Nishida and van der Werff，2007）。

## 3.2 叶表皮微形态特征在物种鉴定和分类上的价值

叶表皮特征对于鳄梨属内一些表型相似和具特殊特征的种类有一定的鉴别作用。很多学者（Kopp，1966；Williams，1977；Bergh and Ellstrand，1987）依据 *Persea borbonia* 和 *P. palustris* 的小枝和叶均具不等数量的毛、花梗比叶柄短等特征认为它们是一个种，Rojas 等（2007）依据 *P. palustris* 的成熟叶为红色且被毛的特征，认为可将其与 *P. borbonia* 区分开来；在本研究中它们的气孔类型（*P. borbonia* 为Ⅲ类，*P. palustris* 为Ⅱ类）和单位视野气孔器数（*P. palustris* 更多）表现出不一致，支持 Rojas 等（2007）认为两者不是同一种的观点。*P. liebmannii* Mez 和 *P. veraguasensis* 的叶都较大，花序均匀分布在小枝上，毛紧贴于花被片，形态特征较为相似（van der Werff，2002），但在本研究中它们的毛状体指数差异较大（*P. veraguasensis* 更大）。Meissner 等（1864）将 *P. schiedeana* 作为 *P. americana* 的变种，van der Werff（2002）认为两者的区别是 *P. americana* 叶梗更短，苞片均匀被毛保护顶芽，叶窄，雌蕊光滑，对它们的叶表皮微形态学特征观察发现 *P. americana* 的叶下表皮细胞相对更大。另外，在本研究中发现以下几个物种的叶表皮特征比较特殊：*P. peruviana* 的下表皮细胞垂周壁呈板状，*P. pseudofasciculata* 上表皮垂周壁厚度极不一致，*P. nudigemma*（Plate Ⅱ：15）的上表皮细胞由2至3个细胞聚集成簇，*P. fulva*（Plate Ⅲ：26）的气孔口为明显锯齿状，*P. areolatocostae* 的气孔下陷。

本研究在表现一致的平列型气孔基础上将鳄梨属植物的气孔器进一步分为3类，但 *P. brevipetiolata*（Plate Ⅲ：23）、*P. nudigemma*（Plate

Ⅲ：24）和 *P. rigens*（Plate Ⅲ：25）三者的气孔很特殊，气孔突出物和保卫细胞下陷，两个弯月型副卫细胞围成圆形并位于保卫细胞上方。形态学上，3 个物种的花被片均等大且在果期宿存，*P. brevipetiolata* 的花和花序光滑，叶下表面脉凸起，而 *P. nudigemma* 和 *P. rigens* 的花被片两面具毛，和楠属相似（van der Werff，2002；Rohwer 等，2009），但在楠属中还未发现有此类型的气孔。

Francisco（2009）认为 *P. pallescens* 叶为羽状脉，老叶有时光滑，幼叶和被片的远轴面常具稀疏紧贴的毛，雄蕊有具柄腺体，退化雄蕊发达，雌蕊被毛，花被片在果期脱落，应归为 *Persea* subg. *Persea*。在主成份分析结果中（图 2），包括 *P. pallescens* 在内的共 9 个 Kopp（1966）所未知的物种与 *P. americana* 及 *P. schiedeana* 聚在一个小分支中，显示了较为相似的叶表皮微形态特征，支持将其归入 *Persea* subg. *Persea*。

主成分分析的结果表明鳄梨属植物被分为两个分支（图 2），其分支结构与 Kopp（1966）的分类系统大致吻合。*Persea* subg. *Persea* 中的成员 *P. americana*、*P. schiedeana* 与另外 12 个种共同组成一个小分支，其中 *P. albiramea*、*P. laevifolia*、*P. areolatocostae*、*P. willdenovii*、*P. pallescens*、*P. laevigata*、*P. fluviatilis*、*P. nudigemma*、*P. povedae* 是 Kopp（1966）未知的；由于叶表皮微形态特征更接近于 *Persea* subg. *Persea* 的种类，Kopp（1966）系统中 *Persea* subg. *Eriodaphne* 的成员 *P. bullata*、*P. cuneata* 和 *P. venosa* 也位于此小分支内。其余隶属于 *Persea* subg. *Eriodaphne* 的 40 个种组成一大分支，其中 *P. albida*、*P. brevipetiolata*、*P. obscura*、*P. pajonalis* 和 *P. perseiphylla* 是 Kopp（1966）未知的。叶表皮微形态特征研究表明 *Persea* subg. *Eriodaphne* 很可能是一个单系类群，支持 Kostermans（1993）和 Rohwer 等（2009）将其另立为一属即 *Mutisiopersea* 的观点。

### 3.3　对将叶表皮微形态特征运用于樟科叶化石鉴定的建议

Pole（2007）对新西兰樟科化石的研究参照 Christophel and Rowett（1996）的结果，根据气孔突出物为蝴蝶型将 OU30306 和 SL2125 号化石标本归为厚壳桂属，但 Christophel and Rowett（1996）、Nishida and Christophel（1999）、Nishida and van der Werff（2007）和本项研究表明，润楠属、楠属、油丹属、赛楠属、鳄梨属、琼楠属、新木姜子属、樟属、*Apollonias* 中部分物种的气孔突出物也为蝴蝶型。因新西兰和澳大利亚的地理特殊性，Pole（2007）对化石的界定可能在其研究区域内是正确的；但由于樟科植物的不同特征组合、网状进化使属和属下类群的界定很困难，建议在界定类群时尽量考虑重要特征的组合而不宜仅使用单个特征，如表皮细胞的形态及大小、气孔类型、毛状体指数和突出物等特征（表 2），同时建议毛状体长度不作为分类依据，因为即使在同一物种内，毛状体长度都表现不一致。

综上所述，对叶表皮特征的观察分析显示，它与来自形态学等方面的结果较为吻合，形态相似的物种通常也具有相似的叶表皮特征；而远缘属间植物由于地理环境等因素的影响也可能在叶表皮形态上表现十分相似，在使用叶表皮微形态特征对叶化石进行界定时要十分谨慎，但叶表皮特征对于疑难物种的分类和特殊物种的鉴定仍有一定的帮助。在今后的深入研究中建议可增加扫描电镜下蜡质类型、气孔外拱盖内缘、晶体等特征，同时扩大样品量并将观察结果与其它学科如形态学、分子系统学等研究结果结合分析，以确定叶表皮特征是否反映物种间系统演化关系，是否被生态因素明显影响，追溯物种的进化方式并对叶表皮特征的系统学价值进行全面评估。

**致谢：**本研究承蒙美国密苏里植物园 Henk van der Werff 博士在样品收集时提供大量帮助，李锡文老师对研究结果的讨论提出建设性意见，以及吴家福同学对鳄梨属采集地点图的绘制给予的热心帮助。

## 〔参　考　文　献〕

Ben-Ya′acov A，1995. The taxonomy of the avocado：a proposed new classification of the *Persea* subgenus *Persea*［R］. Third world Avocado Congress，Tel Aviv，Israel，Abstract：75

Bergh BO，Ellstrand N，1987. Taxonomy of the avocado［J］. *California Avocado Society Yearbook* 1987，**70**：135—145

Chen JQ (陈俊秋), Li L (李朗), Li J (李捷) *et al.*, 2009. Bayesian inference of nrDNA ITS sequences from *Machilus* (Lauraceae) and its systematic significance [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **31** (2): 117—126

Christophel DC, Kerrigan R, Rowett AI, 1996. The use of cuticular features in the taxonomy of the Lauraceae [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **83** (3): 419—432

Christophel DC, Rowett AI, 1996. Leaf and Cuticle Atlas of Australian Leafy Lauraceae [M]. Australian Biological Resources Study, Canberra

Dilcher DL, 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains [J]. *The Botanical Review*, **40**: 1—157

Edwards HH, 1989. The stomatal complex of *Persea borbonia* [J]. *Canadian Journal of Botany*, **68**: 2543—2547

Francisco GL, 2009. *Persea pallescens*, a new combination for *Phoebe pallescens* (Lauraceae, Perseeae), a mistaken taxon of Mexico and Guatemala [J]. *Novon*, **19** (2): 201—203

Franco C, 1939. Relation between chromosome number and stomata in *Coffea* [J]. *Botany Garden*, **100**: 817—827

Hill RS, 1986. Lauraceous leaves from the Eocene of Nerriga, New South Wales [J]. *Alcheringa*, **10**: 327—351

Kamel EA, Loutfy MHA, 2001. Laurel family (Lauraceae) the significance of cuticular features, petiole anatomy and SDS-PAGE in the taxonomy of the Lauraceae [J]. *Pakistan Journal of Biological Science*, **4** (9): 1094—1100

Kopp LE, 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the western hemisphere (Perseae-Lauraceae) [J]. *Memoirs of New York Botany Garden*, **14**: 1—120

Kostermans AJGH, 1993. *Mutisiopersea* Kostermans, a new genus in Lauraceae [J]. *Rheedea*, **3**: 132—135

Li J, Christophel DC, 2000. Systematic relationships within the *Litsea* complex (Lauraceae): A cladistic analysis based on morphological and leaf cuticle data [J]. *Australian Systematic Botany*, **13**: 1—13

Li J, Christophel DC, Conran JG *et al.*, 2004. Phylogenetic relationships within the 'core' Laureae (*Litsea* complex, Lauraceae) inferred from sequences of the chloroplast gene *mat*K and nuclear ribosomal DNA ITS regions [J]. *Plant Systematics and Evolution*, **26**: 19—36

Meissner CF, 1864. Lauraceae [A]. In: Candolle AD ed., Prodromus Systematic Naturalis Regni Vegetavilis [M], **15**: 1—260

Mhameed S, Sharon D, Kaufman D *et al.*, 1997. Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill) cultivars and between *Persea* species [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, **94**: 279—286

Nishida S, Christophel DC, 1999. Leaf anatomy of *Beilschmiedia* (Lauraceae) in the neotropics [J]. *Nature and Human Activities*, **4**: 9—43

Nishida S, van der Werff H, 2007. Are cuticular characters useful in solving generic relationships of problematic species of Lauraceae? [J]. *Taxon*, **56** (4): 1229—1237

Pole M, 2007. Lauraceae macrofossils and dispersed cuticle from the Miocene of southern New Zealand [J]. *Palaeontologia Electronica*, **10** (1): 3A—38p

Rohwer JG, Li J, Rudolph B *et al.*, 2009. Is *Persea* (Lauraceae) monophyletic? Evidence from nuclear ribosomal ITS sequences [J]. *Taxon*, **58** (4): 1153—1167

Rojas EC, Terrazas T, Lo′pez-Mata L, 2007. *Persea* (avocados) phylogenetic analysis based on morphological characters: hypothesis of species relationships [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **54**: 249—258

van der Werff H, 2002. A synopsis of *Persea* (Lauraceae) in central America [J]. *Novon*, **12** (4): 575—586

Wilkinson HP, 1979. The Plant Surface (Mainly Leaf) [A]. Metcalfe CR, Chalk L eds., Anatomy of the Dicotyledons [M]. Oxford: Clarendon Press, **1**: 97—165

Williams LO, 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subg. *Persea* [J]. *Economic Botany*, **31**: 315—320

Zhuang XY (庄雪影), Zhang Y (张粤), Sun TX (孙同兴), 2002. Leaf epidermis and their taxonomic significance in *Machilus* of Hong Kong [J]. *Journal of South China Agricultural University* (华南农业大学学报), **23** (1): 52—54

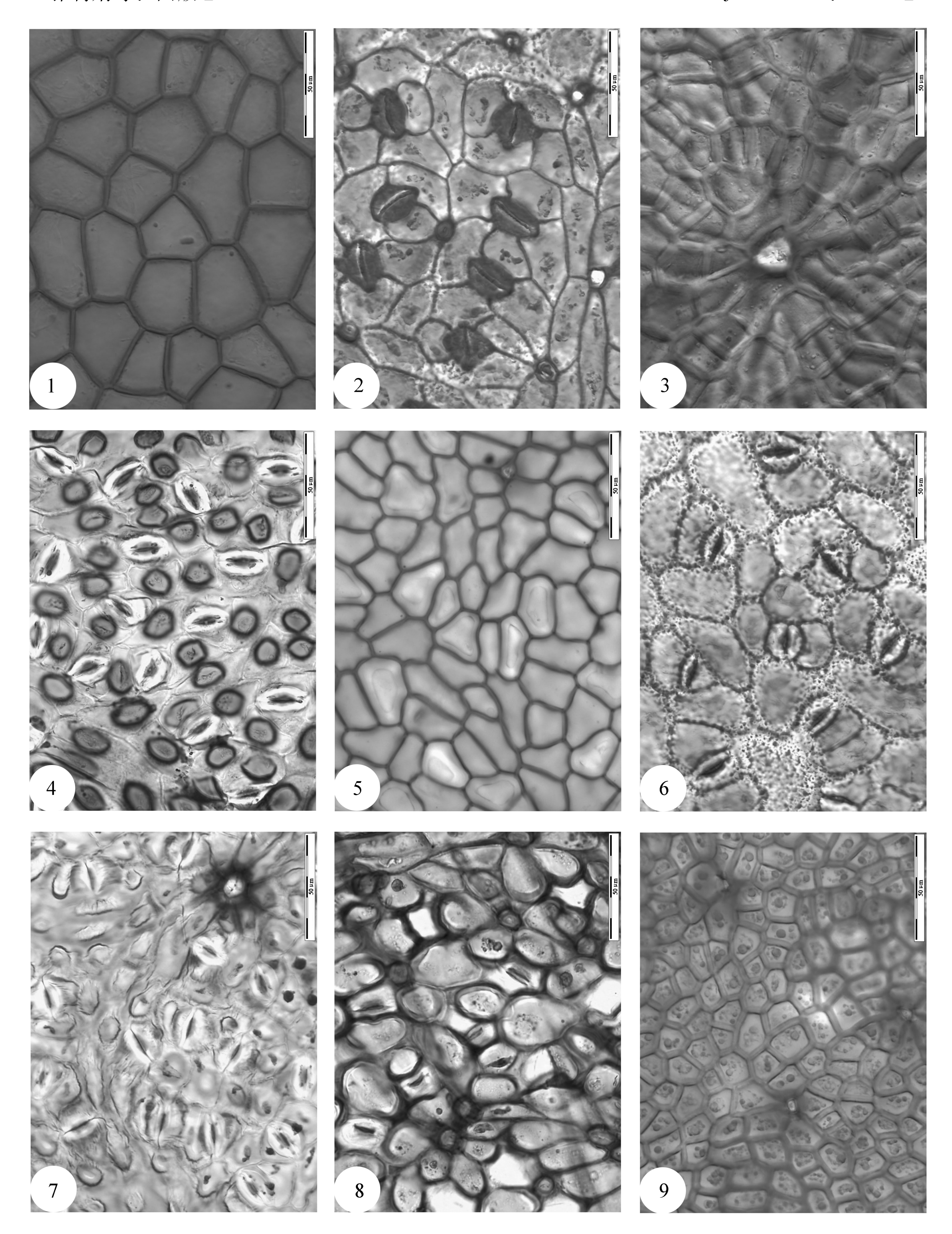
## Explanation of Plates

**Plate Ⅰ** 1—9. Characteristics of leaf epidermal micromorphology using light microscopy. 1. *Persea areolatocostae*; 2. *P. albiramea*; 3. *P. veraguasensis*; 4. *P. povedae*; 5. *P. laevifolia*; 6. *P. pallescens*; 7. *P. peruviana*; 8. *P. areolatocostae*; 9. *P. alba*.

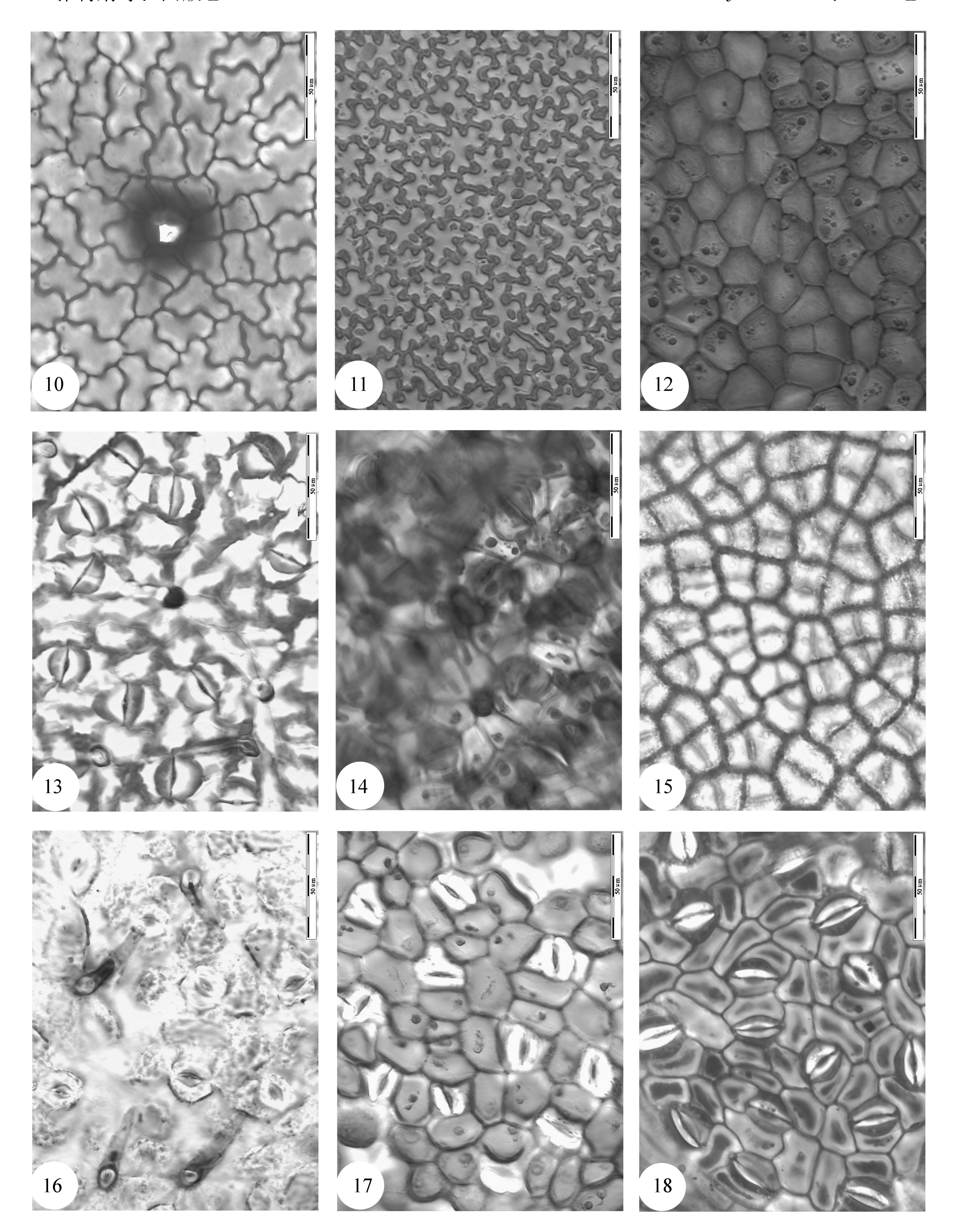
**Plate Ⅱ** 10—18. Characteristics of leaf epidermal micromorphology using light microscopy. 10. *P. palustris*; 11. *P. brevipetiolata*; 12. *P. obscura*; 13. *P. pseudofasciculata*; 14. *P. jenmanii*; 15. *P. nudigemma*; 16. *P. pallescens*; 17. *P. venosa*; 18. *P. palustris*.

**Plate Ⅲ** 19—26. Characteristics of leaf epidermal micromorphology using light microscopy. 19. *P. chamissonis*; 20. *P. obscura*; 21. *P. meridensis*; 22. *P. major*; 23. *P. brevipetiolata*; 24. *P. nudigemma*; 25. *P. rigens*; 26. *P. fulva*

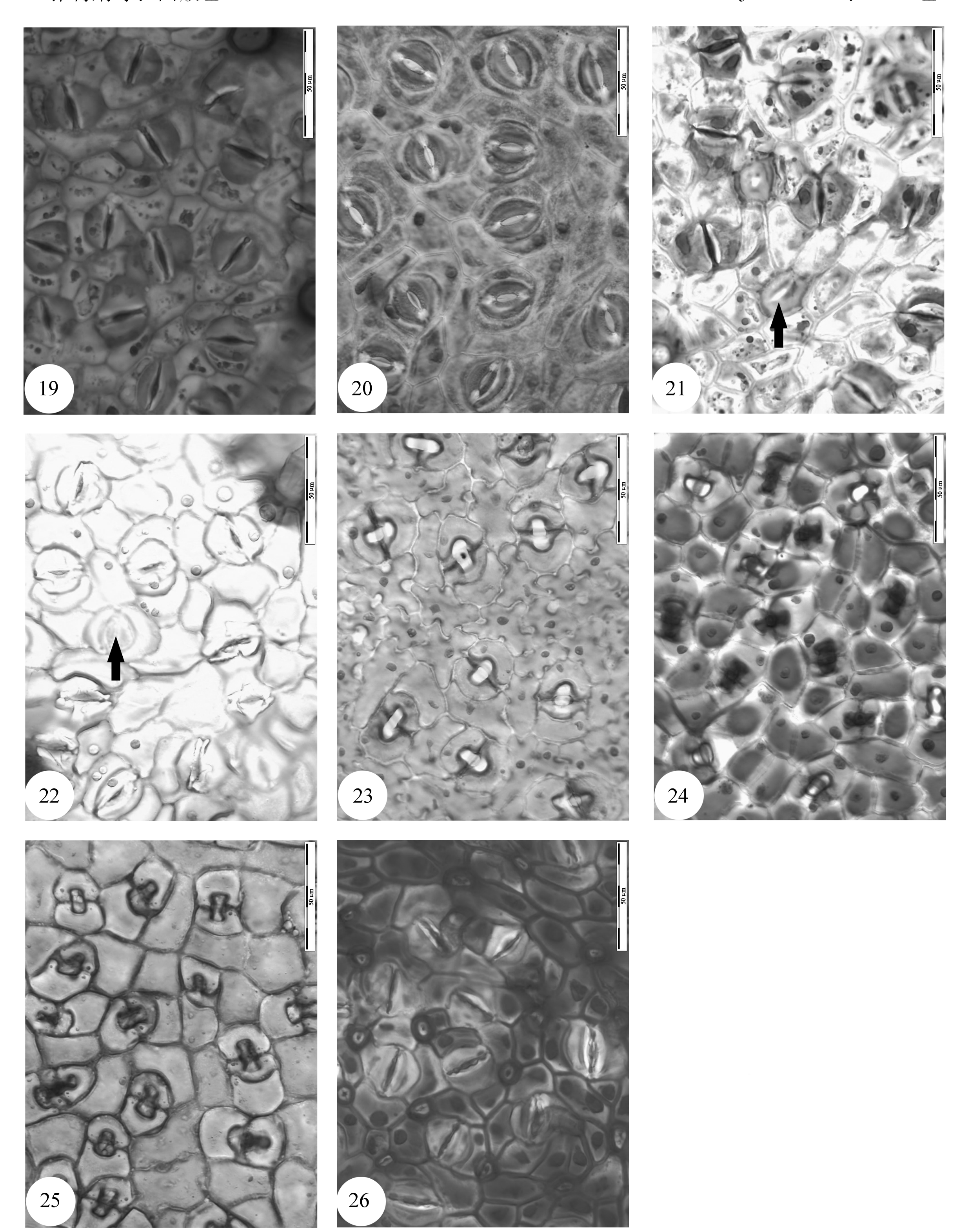
郭莉娟等：图版Ⅰ　　GUO Li-Juan *et al*.: Plate Ⅰ



郭莉娟等：图版Ⅱ GUO Li-Juan *et al*.: Plate Ⅱ



郭莉娟等：图版Ⅲ　　GUO Li-Juan *et al*.: Plate Ⅲ



云 南 植 物 研 究 2010, **32** (3): 204～210
**Acta Botanica Yunnanica** DOI: 10.3724/SP. J. 1143.2010.09233

# 濒危植物水青树种子的生物学特性*

罗靖德，甘小洪**，贾晓娟，谢 丹，张 烈
(西华师范大学生命科学学院，四川 南充 637009)

**摘要：**通过连续三年（2006～2008）对水青树种子（*Tetracentron sinense*）的形态特征和生理特性等指标进行检测，探讨了不同储藏温度、时间和不同基质对水青树种子萌发的影响，分析了与种子生物学特性相关的濒危机制。水青树种子很小，其形态特征、千粒重、含水量和饱满度在不同年限间差异不显著，而吸水速率却差异显著，其中2007年种子的吸水速率最快。TTC染色测得3年水青树种子的活力几乎为0，但其活力指数分别为0、0.41和0.27，表明TTC染色法不适于水青树种子活力的估算。低温储藏后，3年种子的萌发率分别为1.25%、96.5%、70.8%，发芽势分别为1%、59.8%、41.8%。随储藏时间的增加，2007年种子活力降低的速度都慢于其它2年，低温储藏的种子活力降低速度慢于常温储藏的种子。不同基质对水青树种子的萌发和幼苗的生长有一定影响。结果表明，大年水青树种子的活力明显强于小年，随储藏时间的增加其活力的丧失速度也慢于小年；低温储藏有利于种子活力的保持。种子生物学特性方面导致水青树更新困难的原因可能有以下几点：(1) 长期进化形成的小种子虽有利于传播和散布，但不利于种子和幼苗的存活；(2) 长期低温不适于种子萌发，难以形成应有的幼苗格局；(3) 长期湿润环境不适于种子安全度过寒冷期。

**关键词：**水青树；种子；形态学；生理；濒危机制
**中图分类号：**Q 945.34 **文献标识码：**A **文章编号：**0253-2700(2010) 03-204-07

# Biological Characteristics of Seeds of Endangered Plant *Tetracentron sinense* (Tetracentraceae)

LUO Jing-De, GAN Xiao-Hong**, JIA Xiao-Juan, XIE Dan, ZHANG Lie
(*College of Life Science, China West Normal University*, Nanchong 637009, China)

**Abstract:** By detecting the indicators of seeds such as the morphology and physiological characteristics within three consecutive years, the effects of different storage temperatures and time, and different media on seed germination of *Tetracentron sinense* were discussed, and also the endangered mechanism associated with biological characteristics of seeds was analyzed. The seeds of *T. sinense* were very small. No significant difference existed associated with seed morphology, 1000-seed weight, water content and plumpness, except for water absorption rate among seeds from different year, and the water absorption rate of seeds from 2007 was the fastest. The TTC results showed that the percentage of seed vigor was close to zero, but the vigor index of seeds among different year was respectively 0, 0.41 and 0.27, which indicated that TTC was not suitable for the estimation of *T. sinense* seed vigor. After stored at lower temperature, the germination rate of these seeds was respectively 1.25%、96.5%、70.8%, and the germination force was 1%、59.8%、41.8%. With the increase of storage time, seeds vigor of three years would decrease gradually, but the loss rate of seed vigor from 2007 was the slowest compared with other years. After stored at room temperature, the seed

* 基金项目：四川省教育厅青年基金项目 (2006B038)
** 通讯作者：Author for correspondence; E-mail: bhgan@163.com
收稿日期：2009-11-23，2010-03-23 接受发表
作者简介：罗靖德 (1988－) 男，西华师范大学生命科学学院生物科学专业 2007 级在读本科生。

vigor would decrease even faster with the increase of storage time, compared with that stored at lower temperature. Different media had a certain effect on seed germination and seedling growth. The results showed that seed vigor from an abundant year was better than that of off year, and would decrease even slower than that of off year with the increase of storage time. The storage at lower temperature was favorable to the maintenance of seed vigor. The reasons resulted in severe danger related to *T. sinense* seeds are as follows: (1) Small seeds contributed to the spread and dispersal of species, was not beneficial to the survival of seed and seedling. (2) Perennial low temperature was not suitable for seed germination and the formation of a seedling pattern; (3) Perennial moist environment was not suitable for seed living through cold period safely.

**Key words**: *Tetracentron sinense*; Seeds; Morphology; Physiology; Endangered mechanism

水青树（*Tetracentron sinense* Oliv.）是水青树科仅存的一种植物，为落叶乔木。主要分布在我国的中、西部，是国家Ⅱ级珍稀保护树种（傅立国和金鉴明，1992）。它的化石存在于中生代中期的地层中，是古老的被子植物，没有导管，对研究古代植物区系、被子植物的系统演化和起源具有重要的科学价值。其木材结构致密，纹理美观，可制家具；也可造林，作观赏树种。由于过度采伐破坏，目前水青树仅残存于深山、峡谷、陡坡悬岩等处，多呈零星散生，已成为濒危物种。

种子具有强大生命力，通过散布、萌发和幼苗定居可使植物远距离扩散（张世挺等，2003）。种子萌发是种子植物生活史中实现种群更新和物种延续的关键（王一峰等，2009），在自然选择压力下，萌发对于物种的长期保存尤为重要。目前，有关水势、光照和不同处理方式对水青树种子萌发的影响已略有报道（徐亮等，2006；周佑勋，2007；甘小洪等，2008），但尚无水青树种子生物学特性方面的系统研究，有关水青树种子生物学特性相关的濒危机制还不清楚。本文通过对水青树种子的形态学特征和生理特性等指标的检测，探讨了不同储藏温度、不同储藏时间和不同基质对水青树种子萌发的影响，分析了水青树种子生物学特性相关的濒危因素，为保护与利用水青树提供科学依据。

## 1　材料和方法

### 1.1　材料

实验用的水青树种子连续三年（2006～2008）采自四川省美姑县大风顶自然保护区龙窝保护站（E：103°08′238″～103°29′046″，N：28°46′305″～28°47′091″），海拔 2 100～2 200 m。该地气候寒冷、湿润、多雨、多雾，年平均降水量 1 100 mm 左右，年平均气温 9.6℃。该种群的结实情况表现出明显的大小年相间的现象，其中 2007 年为大年。水青树果穗于每年的 11 月采集，经自然风干后，分别于常温和低温（4℃）条件下储藏。2009 年 1 月开始实验。

### 1.2　方法

1.2.1　种子的千粒重、含水量和饱满度测定　经净度分析后，分别随机取低温储藏的 3 年水青树种子各 1 000 粒，按照甘小洪等（2008）的方法测定种子的千粒重和含水量。然后对种子的饱满、干瘪和败育进行识别，对无法识别的种子纵剖后用显微镜观察胚的发育状况，计算饱满种子所占的百分比，取其平均值，即为饱满度。

1.2.2　种子的形态特征检测　按 1.2.1 的方法取水青树种子，利用电子数显卡尺，对种子的长、宽、厚进行检测，计算其平均值。

1.2.3　种子吸胀　参考贺慧等（2008）的种子吸胀方法并作如下改进：分别取低温储藏的 3 年饱满种子各 500 粒，各 3 个重复。用蒸馏水浸没，在 25℃恒温箱中保温。每 1 h 取出种子，吸干浮水称重，直至恒重。计算吸水量。

1.2.4　种子活力的测定　参考 ISTA（2006）种子检验规程，并根据水青树种子的实际情况，利用 TTC（0.1%）染色法测定水青树种子的活力，按 1.2.3 的方法取种浸泡。8 h 后，沿种子的纵轴切开，在 25℃条件下用 TTC（0.1%）染色 24 h。将染成红色的种子记为有活力的种子，未被染成红色的种子记为无活力的种子，计算有活力种子所占的百分比。

1.2.5　萌发实验

1.2.5.1　低温储藏种子的萌发实验　分别取低温储藏的 3 年饱满种子各 3 组，每组 4 个重复，每个重复 100 粒，分 3 次进行萌发。每次的时间间隔为 60 d。萌发前先用 0.1% NaClO 溶液消毒 30 min，蒸馏水漂洗 5～6 次；然后在 25℃的蒸馏水中浸泡 8 h；在 1 000 lx、8 h·$d^{-1}$ 的光照条件、25℃恒温下（周佑勋，2007），以两层滤纸为基质进行萌发，实验中保持湿润和通气。当胚根长到种长一半时视为萌发（徐亮等，2006），每 24 h 记录一次，萌发结束后计算萌发起始时间、持续时间、萌发率和发芽势。待子叶长出后，每组每个重复随机选取 20

株，测量其根、茎的长度并计算活力指数。

1.2.5.2 常温储藏种子的萌发实验 取常温储藏的2008年饱满种子3组，每组4个重复，每个重复100粒。萌发时间、方法及处理同1.2.5.1。

1.2.5.3 不同基质对水青树种子萌发的影响 取低温储藏的2007年饱满种子2组，每组4个重复，每个重复100粒。消毒和浸泡同1.2.5.1。分别播撒在装有灭菌的沙粒或沙土混合（沙粒：土为1∶1）的花盆中，并用保鲜膜封口，在常温下萌发（张文良等，2008）。统计方法同1.2.5.1。子叶长出后，每组选取长势相同的幼苗30株，每3天测1次茎长和子叶长直至连续一周恒定为止。

1.2.6 实验数据的计算与处理

种子含水量＝(种子鲜重—种子烘干后的重量)/种子鲜重×100%；

吸水量＝(种子吸水后重量—种子吸水前重量)/种子吸水后重量×100%；

萌发率＝(N/100)×100%；

发芽势＝正常萌发到达高峰时N/100×100%；

活力指数＝萌发率×(幼苗根长(cm)＋幼苗茎长(cm))（Anfinrud and Schneiter，1984）；

其中：N为萌发种子总数；Ni为第i天萌发种子数；i为萌发天数。

水青树种子的千粒重、饱满度、含水量和形态特征，采用SPSS统计软件中的Independent-Samples *T*-Test进行差异显著性分析。实验中的萌发率和发芽势，则采用该软件中的One-Way ANOVA进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 种子的千粒重、饱满度与含水量

千粒重是衡量种子品质的重要指标（叶常丰，1994）。水青树种子的千粒重以2008年的最大；饱满度以2007年的最高；含水量以2006年的最高（表1）。*T*检验结果显示：水青树种子的千粒重、饱满度和含水量在不同年限间没有显著性差异。

### 2.2 种子的形态特征

2008年种子长度最大，2007年种子宽和厚最大（表2）。*T*检验结果显示：在宽方面，2007年

**表1 不同年限水青树种子千粒重、饱满度和含水量*T*检验**

Table 1 *T*-test of weight per 1000 seeds, plumpness and water content of *T. sinense* seeds from different years

| 年份 Year | 千粒重 Weight per 1000 seeds (g) | 饱满度 Plumpness (%) | 含水量 Water content (%) | *T*检验 *T*-test | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 2007 | 2008 |
| 2006 | 0.0622±0.001 | | | 0.325 | 0.358 |
| | | 30.8±0.02 | | 0.162 | 0.613 |
| | | | 32.7±0.14 | 0.491 | 0.282 |
| 2007 | 0.0787±0.003 | | | | 0.843 |
| | | 57.1±0.05 | | | 0.113 |
| | | | 14.6±0.07 | | 0.119 |
| 2008 | 0.0902±0.003 | | | | |
| | | 38.6±1.76 | | | |
| | | | 27.0±0.17 | | |

*：表示差异性显著（α=0.05）；**：表示差异性极显著（α=0.01），下同。

'*' shows the difference is significant when α=0.05; '**' shows the difference is most significant when α=0.01. The same followed.

**表2 不同年限水青树种子形态学*T*检验**

Table 2 *T*-test of the morphology of *T. sinense* seeds from different years

| 年份 Year | 长 Length (mm) | 宽 Width (mm) | 厚 Thickness (mm) | *T*检验 *T*-test | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 2007 | 2008 |
| 2006 | 2.20±0.38 | | | 0.074 | 0.138 |
| | | 0.48±0.12 | | 0.003** | 0.066 |
| | | | 0.30±0.08 | 0.021* | 0.000** |
| 2007 | 1.93±0.35 | | | | 0.000** |
| | | 0.55±0.14 | | | 0.006** |
| | | | 0.35±0.09 | | 0.104 |
| 2008 | 2.64±0.44 | | | | |
| | | 0.52±0.13 | | | |
| | | | 0.33±0.10 | | |

与其它两年之间存在极显著性差异；在长方面，2007 年与 2008 年之间有极显著性差异，与 2006 年之间差异不显著；在厚方面，2007 年只与 2006 年之间有显著性差异。说明水青树种子的形态特征在不同年限间没有显著性差异。

**2.3　种子活力**

TTC 染色结果显示：低温储藏后不同储藏时间的 3 年水青树种子均无法染上色，显示其活力几乎为 0。而萌发结果显示 3 年种子的活力指数分别为 0、0.41 和 0.27。说明 TTC 法不适于水青树种子活力的估算。

**2.4　种子吸胀**

充分吸胀是种子萌发的先决条件（傅家瑞，1985）。25℃温水中，2007 年的水青树种子吸水 7 h 就已达饱和；其它两年的种子在 8 h 时达到饱和，说明 2007 年种子的吸水能力较强。3 年种子最终吸水量占吸水后的总重的比率分别为 73.6%、62.8%、62.8%，说明种皮透水性良好，在水分充足时种子均能迅速吸水为萌发做准备。

**2.5　萌发实验**

2.5.1　低温储藏的水青树种子的萌发实验　低温储藏的 2006～2008 年的种子萌发率分别为 1.25%、96.5%、70.8%，发芽势分别为 1%、59.8%、41.8%；三者之间有极显著差异（$P<0.01$）（图 1），说明水青树种子的生理特性在不同年限间有差别。2007 年的种子经低温储藏后的 3 次萌发率分别为 96.5%、92.3%、90.8%，相互间差异显著（$0.01<P<0.05$）；发芽势分别为 51.3%、46%、42%，相互间差异不显著（$P>0.05$）（图 2）；在实验中没有出现霉变种子。2008 年的种子经低温储藏后的 3 次萌发率分别为 70.8%、53.3%、26.5%（$P<0.01$），发芽势分别为 41.8%、28.5%、6.8%（$P<0.01$），相互间有极显著差异（图 3），且实验中霉变种子数随储藏时间的增加而增多。说明水青树种子的活力会随低温储藏时间的增加而降低；但不同年限种子活力的降低速度有差别。

2.5.2　常温储藏的种子的萌发实验　常温储藏的 2008 年水青树种子 3 次的萌发率分别为 66.5%、40.5%、0（$P<0.01$），发芽势分别为 45.3%、24.8%、0（$P<0.01$），相互间的差异性显著（图 4）。在实验过程中霉变的种子数随储藏时间的增加而增多。与低温储藏的 2008 年种子相比（图 3），常温储藏的水青树种子活力降低得更快。

2.5.3　不同基质对水青树种子萌发的影响　常温下，2007 年种子在沙土混合与沙基质中的萌发率分别为 88%、86.3%，差异性不显著（$P>0.05$）；发芽势分别为 44.7%、29.7%，差异性显著（$0.01<P<0.05$）（图 5）。同时，沙土混合基质中水青树幼苗的子叶和茎的长势好于沙基质（图 6～7）。说明不同基质对种子的萌发和幼苗的生长有一定的影响，这可能与基质质地及所含养分有关。

## 3　结论与讨论

**3.1　种子大小**

一般情况下，种子的长和宽比较稳定，但厚度受生长环境的影响较大，且种子的长、宽、厚

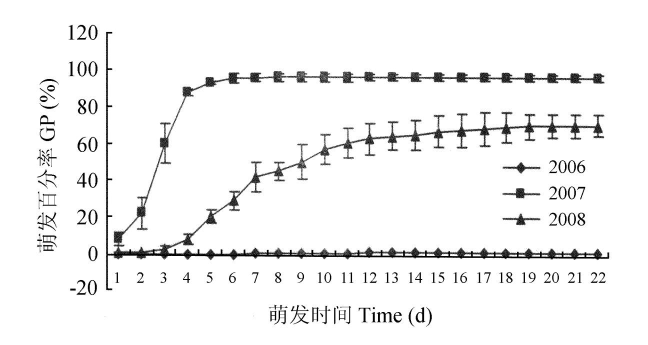



图 1　4℃储藏条件下不同年限水青树种子萌发过程

Fig. 1　Germination process of *T. sinense* seeds of different years stored at 4℃

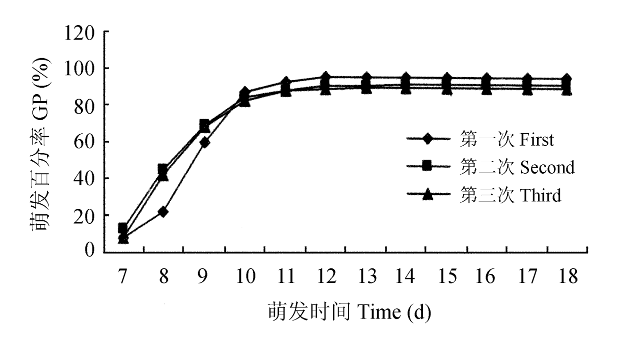



图 2　4℃储藏条件下不同储藏时间的 2007 年水青树种子的萌发过程

Fig. 2　Germination process of *T. sinense* seeds of 2007 stored at 4℃

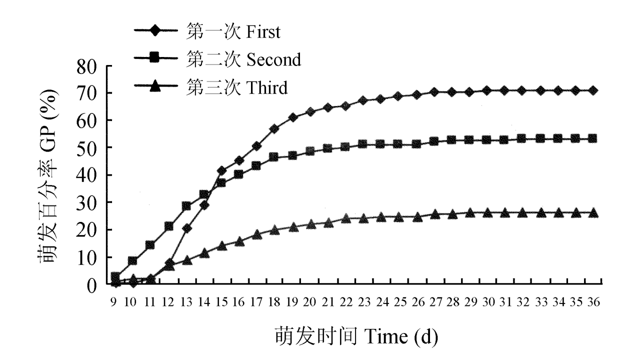



图3　4℃储藏条件下不同储藏时间2008年水青树种子的萌发过程

Fig. 3　Germination process of *T. sinense* seeds of 2008 stored at 4℃

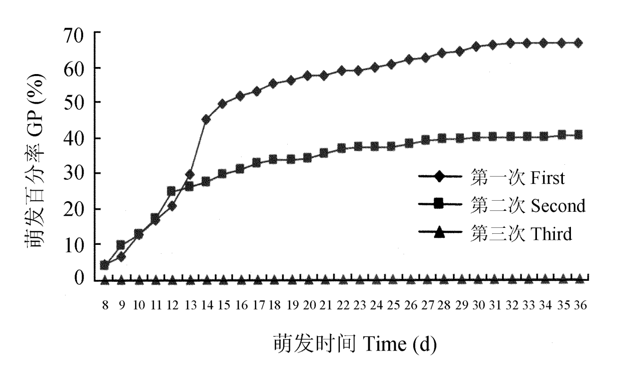



图4　常温储藏条件下不同时间2008年水青树种子的萌发过程

Fig. 4　Germination process of *T. sinense* seeds of 2008 stored at room temperature

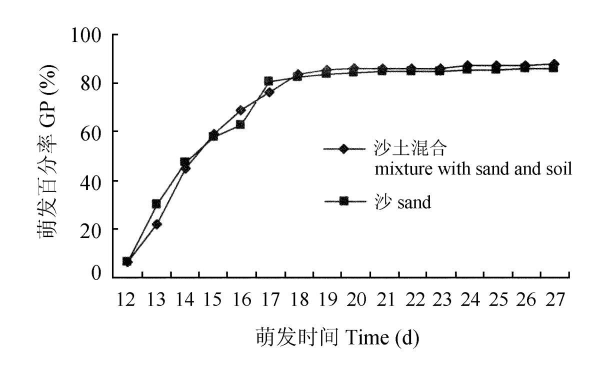



图5　不同基质对2007年水青树种子萌发的影响

Fig. 5　Effect of different matrix on the germination of *T. sinense* seeds of 2007

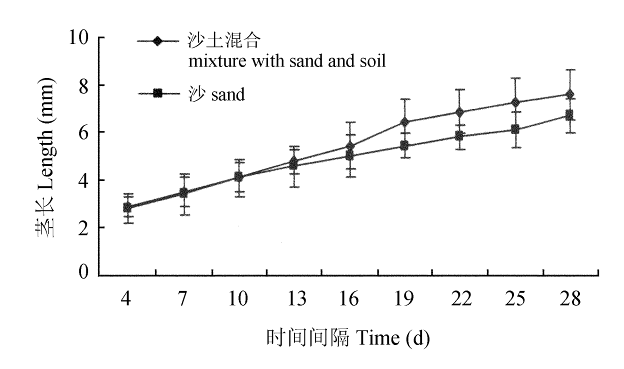



图6　不同基质对2007年水青树幼苗茎的生长的影响

Fig. 6　Effect of different matrix on the stem growth of *T. sinense* seedling of 2007

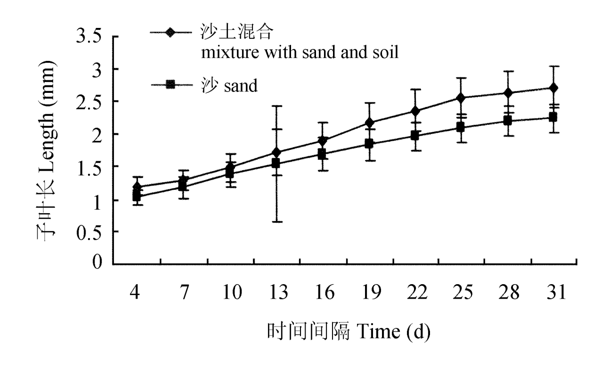



图7　不同基质中2007年水青树幼苗子叶长的变化过程

Fig. 7　Change process in the length of cotyledon of *T. sinense* seedlings of 2007 in the different matrix

在清选上有特殊重要意义（叶常丰，1994）。实验结果显示，水青树种子除在宽上差异性极显著且呈现规律外，长和厚在大小年间并无规律可寻，这表明水青树种子的形态学特征在清选上意义不大，与前人的研究结果不一致，其原因有待进一步研究。

种子大小是植物生活史中的关键特征（王桔红等，2007）。结果表明，3年水青树种子的千粒重均很轻，其平均值低于许多木本植物（陈章和等，2002），且单株母树单一果穗的产种量约为1 080粒（甘小洪等，2009）。可见，水青树采用了产生大量小种子的生殖策略，这有利于逃避动物的取食（武高林和杜国祯，2008）。在相同条件下，在远离母株被动扩散时要比大种子的物种有更多机会占据适宜的安全岛（杨允菲和祝玲，1994）。在木本植物中，较大种子的物种能优先达到较好的光环境，可在遮阴条件下存活较长时间（Fenner，1983）。这种典型的需光小种子（周佑勋，2007）能否得到较好的光环境，能否在遮阴条件下继续存活有待研究。一般地，重量大的种子比重量小的种子具有更多的储藏物

（傅家瑞，1985），如此小的种子其内藏物可能不足，导致其适合度差（Grime and Jeffrey，1965），能否保证种子库的持久性，是否进一步影响该物种的分布和丰富度还有待研究。

实验测得，刚长出子叶的水青树幼苗茎根总长约 4.75 mm，它对光照和营养等资源的竞争力和对不良环境的抵抗力很弱（Coomes and Grubb，2003），在野外甚至直接影响其存活。Thompson（1987）报道较大种子的幼苗能在较厚的凋落物中存活和生长。水青树分布在植被较完整、土壤肥沃、土层较厚的山谷或山坡下部（张萍，1999），其生境中往往具有较厚的凋落物。这种小幼苗能否在较厚的凋落物上定居以及如何定居有待研究。

### 3.2　种子生理特性

种子活力的高低是影响出苗整齐度、植株性能的关键（陶嘉龄，1991）。结果表明，大年种子活力指数最高。但随储藏时间的增加，无论常温、低温，种子活力均会逐渐降低并最终丧失，只不过大年种子活力的丧失速度慢于小年的。大年种子的饱满度和吸水能力都优于小年，可能是大年时水青树在种子繁殖投入量上比小年的多，且由于种子内藏物的性质、含量及分布不同影响了种子的吸水特性（叶常丰，1994）。此外，大年种子的含水量比小年的少很多，使其更易储藏（叶常丰，1994）。因此，在对水青树进行人工保育时，应尽量采集大年的种子。

甘小洪等（2008）报道：短时间低温储藏的水青树种子萌发率和发芽势都比常温的低。本实验在萌发前对种子进行了长时间的低温处理。结果表明，不论大年还是小年，低温干燥储藏要比常温的萌发效果好，这与陶嘉龄（1991）报道的低温干燥有利于种子的储藏相符。也说明水青树种子对低温环境有个适应的过程。据实验，水青树种子在吸水充分时 6～8 天就能萌发（张世挺等，2003），说明种子无休眠现象。据资料，水青树生长地湿度大，寒冷期较长（张萍，1999）。而其种子在低于 15℃时是不能萌发的（周佑勋，2007）。这种湿润和寒冷的环境就有可能推迟种子萌发，导致其活力减弱或无法萌发，从而影响水青树种群的自然更新。

综合以上分析，种子生物学特性导致水青树更新困难的原因可能有以下几点：（1）长期进化形成的小种子虽有利于传播和散布，但不利于种子和幼苗的存活，这是水青树更新不利的根本原因；（2）长期低温不适于种子的萌发，难以形成水青树应有的幼苗格局；（3）长期湿润不利于种子安全度过寒冷期。

## 〔参　考　文　献〕


叶常丰，1994. 种子学［M］. 北京：中国农业出版社，14—59

陶嘉龄，1991. 种子活力［M］. 北京：科学出版社，42—58

傅家瑞，1985. 种子生理［M］. 北京：科学出版社，21—78

傅立国，金鉴明，1992. 中国植物红皮书［M］. 北京：科学出版社，590—591

Anfinrud MN，Schneiter AA，1984. Relationship of sunflower germination and vigor tests to field performance［J］. *Crop Science*，**24**：341—344

Chen ZH（陈章和），Peng JF（彭姣凤），Zhang DM（张德明）*et al.*，2002. Seed germination and storage of woody species in the lower subtropical forest［J］. *Acta Botanica Sinica*（植物学报），**44**（12）：1469—1476

Coomes DA，Grubb PJ，2003. Colonization，tolerance，competition and seed-size variation within functional groups［J］. *Trends in Ecology and Evolution*，**18**（6）：283—291

Fenner M，1983. Relationships between seed weight，ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae［J］. *New Phytologist*，**95**：697—706

Gan XH（甘小洪），Bai Q（白琴），Ma YH（马永红），2009. The characteristic of fruits and seeds of rare plant *Tetracentron sinense* Oliv［J］. *Seed*（种子），**28**（9）：59—61

Gan XH（甘小洪），Tian MJ（田茂洁），Luo YJ（罗雅杰），2008. Study on the characteristics of seed germination of endangered plant *Tetracentron sinense*［J］. *Journal of China West Normal University*（*Natural Sciences*）（西华师范大学学报（然科学版）），**29**（2）：132—135

Grime JP，Jeffrey DW，1965. Seedling establishment in vertical gradients of sunlight［J］. *Journal of Ecology*，**53**：621—634

He H（贺慧），Yan L（燕玲），Zhen B（郑彬），2008. Study on morphological structure and germination character of five desert plant［J］. *Journal of Arid Land Resources and Environment*（干旱区资源与环境），**22**（1）：184—188

ISTA，2006. International Rules for Seed Testing［M］. Beijing：Higher Education Press，154—176

Thompson K，1987. Seed and seed banks［J］. *New Phytologist*，**106**：23—24

Wang JH（王桔红），Cui XL（崔现亮），Chen XL（陈学林）*et al.*，2007. Comparative study of seed germination，seed

size and their relationships in Mesad and Siccocolous [J]. *Journal of Plant Ecology* (Chinese Vision) (植物生态学报), **31** (6): 1037—1045

Wang YF (王一峰), Li Y (李岩), Dai JX (代建霄) *et al*., 2009. A study on seeds germination of five species (ten population) of *Saussurea* DC. in Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Journal of Northwest Normal University* (*Natural Sciences*) (西北师范大学学报 (自然科学版)), **45** (3): 87—92

Wu GL (武高林), Du GZ (杜国祯), 2008. Relationships between seed size and seedling growth strategy of herbaceous plant a review [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **19** (1): 191—197

Xu L (徐亮), Xiong CY (熊铁一), Li CH (李策宏), 2006. Study on germination characteristic of *Tetracentron sinense* seed under different osmotic conditions [J]. *Seed* (种子), **25** (11): 33—35

Yang YF (杨允菲), Zhu L (祝玲), 1994. Analysis on 1000-seed weight and the diveristies of 160 species common forage grass in northeast grassland of China [J]. *Journal of Northeast Normal University* (东北师大学报), (3): 108—115

Zhang P (张萍), 1999. Study of geographical distribution and biological broperties of ecology on *Tetracentron sinense* [J]. *Yantai Teachers University Journal* (*Natural Sciences*) (烟台师范学院学报 (自然科学版)), **15** (2): 148—150

Zhang ST (张世挺), Du GZ (杜国祯), Chen JK (陈家宽), 2003. The present situation and prospect of studies on evolutionary ecology of seed size variation [J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **23** (2): 353—364

Zhang WL (张文良), Zhang XP (张小平), Hao CY (郝朝运) *et al*., 2008. Characteristics of seed germination of the rare plant *Cercidiphyllum japonicum* [J]. *Acta Ecology Sinica* (生态学报), **28** (11): 5445—5452

Zhou YX (周佑勋), 2007. Light requirement characteristics for the germination of *Tetracentron sinense* Oliv seeds [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology* (中南林业科技大学学报), **27** (5): 54—57

*　*　*　*　*　*　*　*　*　*　*　*　*　*　*

## 《云南植物研究》第5届编委会第4次会议纪要

**时间：** 2010年4月26日（星期一）

**地点：** 办公大楼二楼会议室

**人员：** 李德铢主编，陈进、刘吉开、李唯奇、杨祝良等学科副主编，孙航、龚洵、刘文耀、李成云、裴盛基、苏志云、谭宁华、余迪求、赵勤实、朱华等编委，信息中心分管领导甘烦远副所长，编辑部刘艾琴、林娜娜等。

2010年4月26日，《云南植物研究》第5届编委会第4次会议在昆明植物研究所行政办公大楼二楼会议室召开，在昆编委15人参加了会议。李德铢主编主持会议并做了编委会2009年工作报告。他首先对2009年度编委会工作进行了回顾，对编委们在过去一年对期刊工作的支持，尤其是五位学科副主编在保证期刊质量，促进期刊发展方面所做出的巨大努力表示衷心的感谢。其次，他对期刊现状、在国内科技期刊界的地位及发展状况作了一些分析，最后就此次编委会的主要议题"《云南植物研究》改刊"，提请编委会讨论。

编委们就议题的主要内容展开了热烈讨论，并形成了共识。《云南植物研究》将一分为二，一方面，根据2010年1月《泛喜玛拉雅植物志》研讨会中提出的与中国植物学会合办，恢复《植物分类学报》的建议，更改刊名并强化系统植物学内容，沿用《云南植物研究》刊号，但重新命名，刊名的更改要跳出地方名的限制，要面向东南亚乃至世界。另一方面，以植物化学为核心内容建立新刊，新刊以植物化学国家重点实验室为依托，创立一份全新英文期刊，力争进入SCI外围。新刊的成立是植物学科发展所需，很有必要。

最后，李德铢主编做了总结发言。他强调，新刊的创立是植物所学科发展形势所需，而且大有发展前途，有希望冲击SCI；而老刊的更名，刊名也要注意，既要简明，但又要落在实处，不能太窄，也不能太泛，老刊要继承传统，仍保持中英文混排的模式，立足国内做强，可以冲击SCI，但不刻意追求SCI收录。

〔下转第284页〕

云　南　植　物　研　究　2010, **32**(3): 211～220
**Acta Botanica Yunnanica**　DOI: 10.3724/SP.J.1143.2010.10001

# 云南松幼苗上红菇类菌根真菌的物种多样性及其菌根形态*

谢雪丹[1,2]，刘培贵[1**]，于富强[1]

（1 中国科学院昆明植物研究所 生物多样性与生物地理学重点实验室，云南 昆明　650204；
2 中国科学院研究生院，北京　100049）

**摘要：** 以滇中 1～2 年生云南松幼苗为研究对象，观察鉴定与其共生的红菇属真菌外生菌根。形态观察发现了 6 种形态型（morphotypes）。本文对这 6 种形态型的外观和显微特征进行了详细描述，尤其强调了菌套形态特征。对 rDNA ITS 片段比对分析表明，6 种形态型对应 6 种红菇属真菌，它们分别是与 *Russula livescens*、*R. violeipes*、*R. densifolia*、*R. nigricans*、*R. sanguinea* 及 *R. nauseosa* 相近的红菇种类。本研究表明，形成的菌根及其菌套和囊状体的特征在红菇属真菌的系统分支间表现出较为稳定的差异。这一研究与前人对该属真菌的菌根形态及分类学研究基本吻合。红菇属真菌是云南松 1～2 年幼苗期的主要共生真菌类群。

**关键词：** 云南松；红菇属；外生菌根；ITS；形态型

**中图分类号：** Q 934.1，Q 948.12　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 0253-2700(2010)03-211-10

# Species Diversity of Russuloid Mycorrhizae-forming Fungi on *Pinus yunnanensis* Seedlings and the Mycorrhizal Morphology

XIE Xue-Dan[1,2], LIU Pei-Gui[1**], YU Fu-Qiang[1]

(1 *Key Laboratory of Biodiversity & Biogeography Kunming Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650204, China; 2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Russuloid ectomycorrhizae on 1－2 years-old seedlings of *Pinus yunnanensis* collected from the central Yunnan, China were investigated. Six morphotypes were recognized by macro- and anatomical-morphological approaches as well as molecular analyses. The six morphotypes were confirmed to represent six phylotypes by matching rDNA ITS sequences. The fungal partners in the six morpho-phylotypes are those closely related with *Russula livescens*, *R. violeipes*, *R. densifolia*, *R. nigricans*, *R. sanguinea* and *R. nauseosa* respectively. The correlation between the morphology of mantles and cystidia and the phylogenetic clades is further supported in our work. The framework, in which this report is included, shows that russuloid mycorrhizae are one of the most dominant representative ectomycorrhizae formed on 1－2 years seedlings of *Pinus yunnanensis*.

**Key words:** *Pinus yunnanensis*; *Russula*; Ectomycorrhizae; ITS; Morphotypes

在地下外生菌根群落中，红菇科（Russulaceae）、革菌科（Thelephoreaeae）和非革菌平伏类真菌（non-thelephoroid resupinates）形成的菌根是最具代表性的菌根真菌类群（Horton

* 基金项目：国家自然科学基金项目（30470011，30770007，30800005）；云南省科技创新强省国际合作专项（2009AC013），国家自然科学基金委员会、云南省人民政府联合基金资助（U0836604），中国科学院创新工程重要方向性项目（KSCX2-YW-G-025）

** Author for correspondence; E-mail: pgliu@mail.kib.ac.cn; Tel & Fax: 0871-5223056

收稿日期：2010-01-04，2010-03-05 接受发表

作者简介：谢雪丹（1985－）女，硕士，主要从事外生菌根多样性研究。

and Bruns, 2001)。其中，红菇属（*Russula* Pers.）真菌与其共生树种形成的菌根是菌根学研究的重点类群。该属为一类严格的外生菌根菌，所有成员均与林木形成外生菌根，且共生树种广泛（Miller and Buyck, 2002; Beenken, 2004a, b; Agerer, 2006）。红菇属真菌形成的菌根多属于接触探索型（contact exploration type），偶有短距离探索型（short-distance exploration type）（Agerer, 2001），其菌丝无锁状联合。红菇属真菌的菌根是在菌根形态学研究中开展得较为深入的类群，现知共计60余种菌根的形态被详细描述过。涉及到的共生树种多为欧洲常见树种，如欧洲冷杉（*Abies alba*）、挪威云杉（*Picea abies*）、欧洲栎（*Quercus robur*）、欧洲水青冈（*Fagus sylvatica*）、林地松（*Pinus sylvestris*）等（Agerer, 1987～2006; Beenken, 2004b）。

红菇属菌根按菌套和囊状体的形态可分为两大类型：菌套为疏丝组织（plectenchymatous）具囊状体（cystidia）和菌套为拟薄壁组织（pseudoparenchymatous）无囊状体类型（Agerer, 2006），偶存在个别例外，如*R. puiggarii*外菌套为疏丝组织，但无囊状体（Haug 等, 2005）。形态学与分子系统学的研究结果表明，该属菌根的形态与基于分子序列所建立的分子系统树中的很多分支（clade）表现出较高的相关性：如菌套为疏丝组织且具囊状体的菌根主要见于Sarnari（1998）分类系统中的*Russula* subgen. *Compactae*、*Russula* subgen. *Heterophyllidae*、*Russula* subgen. *Ingratula*，这些类群在Miller and Buyck（2002）的系统树分别对应于基部分支Clade 2、Clade 3和Clade 4，在Shimono等（2004）的系统树上为Clade E和Clade F（Miller and Buyck, 2002; Beenken, 2004a; Shimono 等, 2004）。有菌索的外生菌根几乎都集中于这些类群。在这一类型的菌根中，又可根据囊状体的形态如菌丝状、锥状（awl-shaped）和尖端有顶球（apical knob）等特征进行细分。如具锥状囊状体的种大多属于*Russula* subgen. *Heterophyllidae*对应Clade 3中的b分支，Clade F的1分支；囊状体尖端有1个顶球的种属于*Russula* subgen. *Ingratula*，对应Clade 3中的a分支，Clade F的4分支；囊状体尖端有2个顶球的种多属于*Russula* subgen. *Compactae*，对应Clade 2和Clade 4，Calde E（Miller and Buyck, 2002; Shimono 等, 2004; Beenken, 2004a）。那些菌套为拟薄壁组织无囊状体的菌根类型多由属于*Russula* subgen. *Russula*和*Russula* subgen. *Incrustatula*的种类形成，另有少量*Russula* subgen. *Ingratula*的种类，分别对应位于Miller and Buyck（2002）的系统树的Clade 6和核心分支Clade 5，和Shimono等（2004）的系统树的Clade B与核心分支Clade D分支。在这类菌根中，又可以根据菌套细胞的形态如不规则形、多角形或表皮细胞状（epimoid）进行分类。菌套细胞为不规则形或表皮细胞状且有不明显的菌丝网（hyphal net）的菌根多由位于Clade 6的种类形成，而菌套细胞为多角形的通常其菌套外没有菌丝网（Agerer, 2006），形成这类菌根的真菌种类大多位于核心分支Clade 5。然而，值得注意的是，菌套表面的外延菌丝、菌丝网或囊状体顶球极易破坏，在取样过程中可能会丢失（Agerer, 2006）。同时，同一种真菌与不同树种形成的菌根其基本特征虽然一致，如菌套类型、有无囊状体、有无菌丝网等，但形态上一些细节也会在不同的树种间表现出差异（Agerer, 1987～2006; Beenken, 2004b）。

云南松（*Pinus yunnanensis*）作为我国西南特别是云南境内主要的建群树种（金振洲和彭鉴, 2004），其林下外生菌根真菌资源十分丰富，现知有39属211种可与其形成外生菌根（于富强等, 2007）。这其中，以红菇科真菌占有最高的比例（占总种数的23.23%）。其中，仅红菇属就达32种，占总种数的15.17%（于富强和刘培贵, 2005）。然而，由于地下菌根的多样性与地上子实体的物种多样性间存在着不对称关系（Horton and Bruns, 2001），仅靠调查地上的子实体难以全面反映菌根真菌的多样性面貌，有必要从菌根水平研究云南松与红菇属真菌形成的外生菌根形态与物种多样性。近年来，分子生物学与形态学研究手段的结合使得研究地下菌根群落的组成结构成为可能（Horton and Bruns, 2001; Tedersoo 等, 2008）。已有的菌根形态学和分子生物学方面的积累为研究云南松下的红菇类菌根

的多样性提供了重要参考。

大面积自然云南松林于 20 世纪 60 年代以来遭到破坏，现有的多为人工云南松林，人工林质量、结构与功能、经营和经济指标均不及自然林(李贵祥等，2007)。在云南松林的造林过程中，如何提高幼苗成活率、提高人工林的品质、增强树林的稳定性成为目前研究的重要课题（于富强和刘培贵，2005；戴开结等，2005，2009；邓云等，2006；刘代亿等，2008；张跃敏等，2008，2009；高永茜等，2009a，b）。大量研究表明，外生菌根的形成可以提高幼苗成活率，加速幼苗生长，加快植被重建与恢复，提高木材质量，提高林木吸收利用营养的能力，防止地力衰退、土壤流失和环境的恶化（Rathnayake 等，2008；Gardes and Bruns，1996；仲凯和刘红霞，2008；Nuñez 等，2009）。故研究云南松与红菇属真菌形成的外生菌根形态与物种多样性，以地下菌根群落入手搞清与云南松幼苗共生的外生菌根类型，一方面可用于指导云南松育苗工作，另一方面还有助于全面评估云南松林的群落结构和稳定性，对实现云南松林木和林下非木材资源的持续利用具有重要生态和经济意义。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料采集及处理

采样地为滇中地区的昆明。选取树龄小于 2 年的幼苗。分别于 2008 年 10 月 21 日在昆明西山黑荞母村纯松林下、2009 年 3 月 22 日、6 月 8 日、7 月 8 日、7 月 12 日在昆明植物园纯松林下共 5 次采集幼苗，每次在 100 m×100 m 样地内随机采集 10 株。将整株幼苗及周边土壤一同挖起，样品大小约为 20×30×30 $cm^3$。材料带回实验室后于 4℃保存，一周内处理完毕。参照 Agerer (1991) 方法对菌根进行处理。共计采集幼苗 50 株。

### 1.2　方法

1.2.1　*形态学观察方法*　在 Leica S8APO 体视显微镜下进行外生菌根的外部形态观察，并用 Nikon 4500 相机拍照。根据菌根的颜色、分枝、菌套表面形态、外延菌丝及菌索的有无等形态特征将其分为不同的形态型 (morphotype)。将每一形态型一式两份保存，一份用 FAA 固定液［福尔马林/冰醋酸/70%乙醇＝5/5/90（v/v/v)］保存供形态解剖观察，一份用 SDS 缓冲液保存供进行 DNA 的提取及后续实验。

将 FAA 固定的菌根材料浸泡在蒸馏水中，取一个菌根根尖于载玻片上，用镊子和解剖针在解剖镜下将菌套剥离，将菌套内、外面分别朝上制片。在显微镜下（Nikon E400）观察内菌套（inner mantle）和外菌套（outer mantle)，观察外菌套的同时观察其表面的外延菌丝（emanating hyphae）和囊状体等结构。观察内、外菌套后，轻轻敲打并挤压制成玻片，观察中菌套（middle mantle)。采用徒手切片方法制片。绘图均于显微镜 10×100 倍下进行，辅以绘图管（型号 Y-IDT)。菌套的分类方法参照 Agerer（1987～2006)。

1.2.2　*DNA 提取及 PCR 反应*　菌根的总 DNA 提取采用改进的 CTAB 法（Gardes and Bruns，1993)。ITS 片段的扩增引物为 ITS1 和 ITS4、ITS1F（Gardes and Bruns，1993）和 LBW（Tedersoo 等，2008)。PCR 扩增体系为：5 μl 10×buffer，4 μl dNTP（2.5 mmol・$L^{-1}$)，3 μl BSA（200 mg・$ml^{-1}$)，每种引物各 2 μl（10 μm mol・$L^{-1}$)，0.5 μl 酶试剂，1 μl DNA 样，用双蒸水（$H_2O_2$）定容至 50 μl。PCR 扩增反应程序的热循环参数为：95℃预变性 3 min；94℃变性 3 min，50℃退火 40 s，72℃延伸 1 min，35 个循环；72℃延伸 7 min。

1.2.3　*PCR 产物亚克隆、测序及分析*　PCR 产物用多功能回收试剂盒（百泰克公司试剂盒）割胶纯化。将 PCR 纯化产物和 PMD18-T（TaKaRa 公司载体试剂盒）载体连接，用热激法把载有目的片段的载体转化进入感受态细胞（DH5α 或 JM109)，对细胞进行培养形成单克隆菌落，用 PCR 检测单克隆，将成功的克隆进行扩大培养后测序（上海生工)。实验所得序列用 BioEdit 编辑，在 NCBI 和 UNITE（Kōljalg 等，2005）中进行比对 (BLAST)，将相似度≥95%的鉴定为相似种，当相似度≥98%且碱基差异 5 个以内的鉴定为同种。

## 2　结果

形态学观察表明，与云南松幼苗共生的红菇属外生菌根明显区分为 6 种形态型。红菇属 6 种菌根形态型的分类检索表如下：

1 菌套为疏丝组织，表面有囊状体 …………………… 2
1 菌套为拟薄壁组织，表面无囊状体 ………………… 5
　2 囊状体为锥状 ………………………………… 3
　2 囊状体顶端有 2 个顶球 ……………………… 4
3 囊状体很多，菌套菌丝直径 2.0～4.0 μm … Morphotype 1
3 囊状体较少，菌套菌丝直径 1.2～2.3 μm … Morphotype 2
　4 外菌套 B 型，菌套厚 25～33 μm …… Morphotype 3
　4 外菌套 H 型，菌套厚 20～31 μm …… Morphotype 4
5 菌套表面有菌丝网，菌丝网细胞为多角不规则型
　…………………………………………… Morphotype 5
5 菌套表面无菌丝网 …………………… Morphotype 6

红菇属6种菌根形态型形态解剖特征描述如下：

形态型1：二叉状分枝，偶单轴，菌根常成团生长呈珊瑚状，幼嫩菌根呈浅棕色、浅红棕色，较老时呈黑褐色、灰黑色，菌根表面有白色菌丝网（图1：1～2）。菌根（ectomycorrhizal system）直径0.27～0.36 mm，长1.63～1.75 mm，菌根根尖（root tips）直径0.20～0.25 mm，长0.33～0.41 mm。菌套厚41～52 μm，单宁层厚2～10 μm。囊状体锥状，纺锤状和烧瓶状（图2：1），外菌套疏丝组织，B型，细胞部分膨大；中菌套细胞短粗明显膨大，部分细胞壁融合，内菌套B型，菌丝粗细一致，菌丝走向为菌根纵向（图2：2～3）。

形态型2：菌根大多为二叉分枝，二叉状菌根成团生长呈珊瑚状，浅红棕色，菌根根尖间有白色或近透明的菌丝网状结构，在水中呈银色反光（图1：3）。菌根直径0.24～0.53 mm，长1.14～1.67 mm，菌根根尖直径0.26～0.36 mm，长0.59～1.15 mm。菌套厚28～40 μm（图3：1），单宁层厚5.0～11.0 μm，哈氏网发达。囊状体锥状，直径1.6～2.6 μm。外菌套为疏丝组织，E型，菌丝直径0.8～2.0 μm，部分菌丝在同一结点或同一结点附近多次分枝，菌丝在结点处出现膨大（图3：2）；中菌套菌丝膨大，部分菌丝细胞壁融合（图3：3）；内菌套疏丝组织，B型，菌丝直径1.7～2.9 μm，菌丝走向均沿菌根纵向（图3：4）。

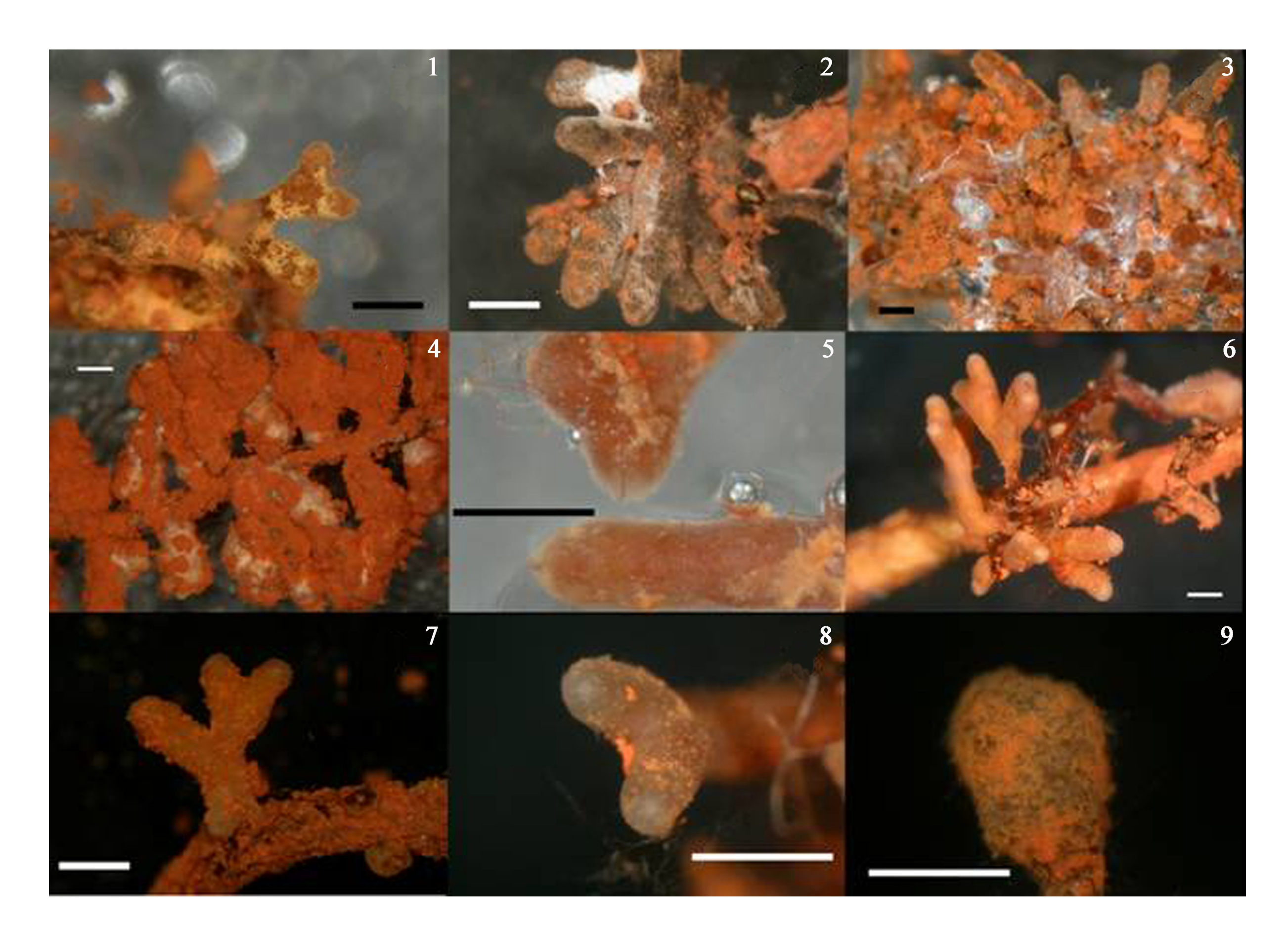



图1 与云南松幼苗共生的6种红菇属真菌菌根外部形态

1：F0177；2：G1098；3：A0543；4：G0693；5：E0255；6：D3100；7：E0255；8：E1271；9：E0866。

以上编号的详细信息见表1，比例尺：0.5 mm

Fig. 1 Six russulloid ectomycorrhizae observed on *Pinus yunnanensis* seedlings

1：F0177；2：G1098；3：A0543；4：G0693；5：E0255；6：D3100；7：E0255；8：E1271；9：E0866.

Detailed information of each voucher shown in Table 1. Scale bars＝0.5 mm

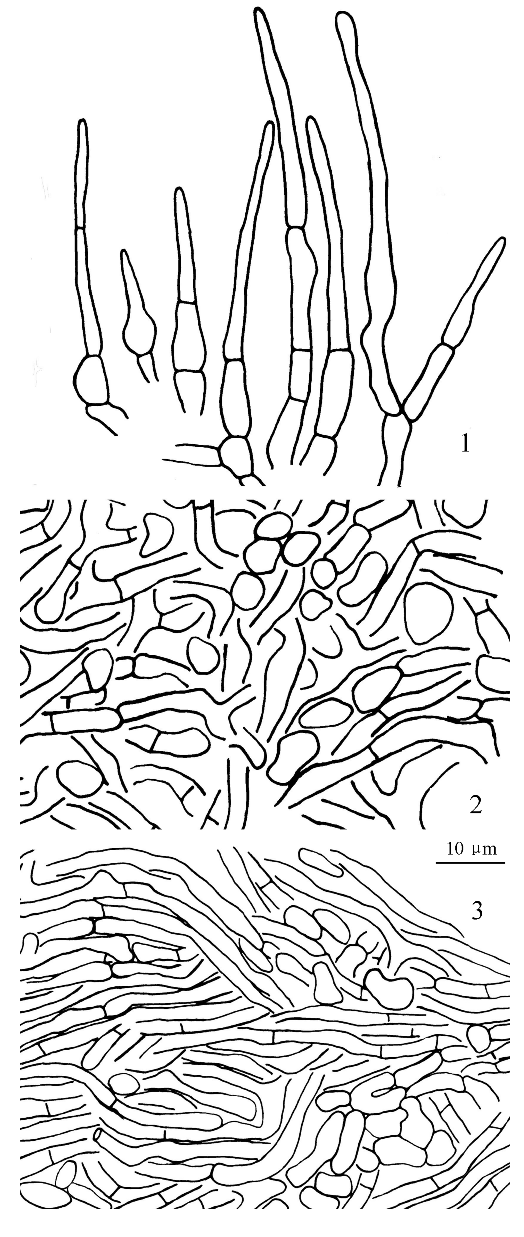



图 2　形态型 1 的解剖结构

1. 囊状体；2. 外菌套；3. 内菌套

Fig. 2　Anatomy of morphotype 1

1. cystidia；2. Outer mantle layer；3. Inner mantle layer

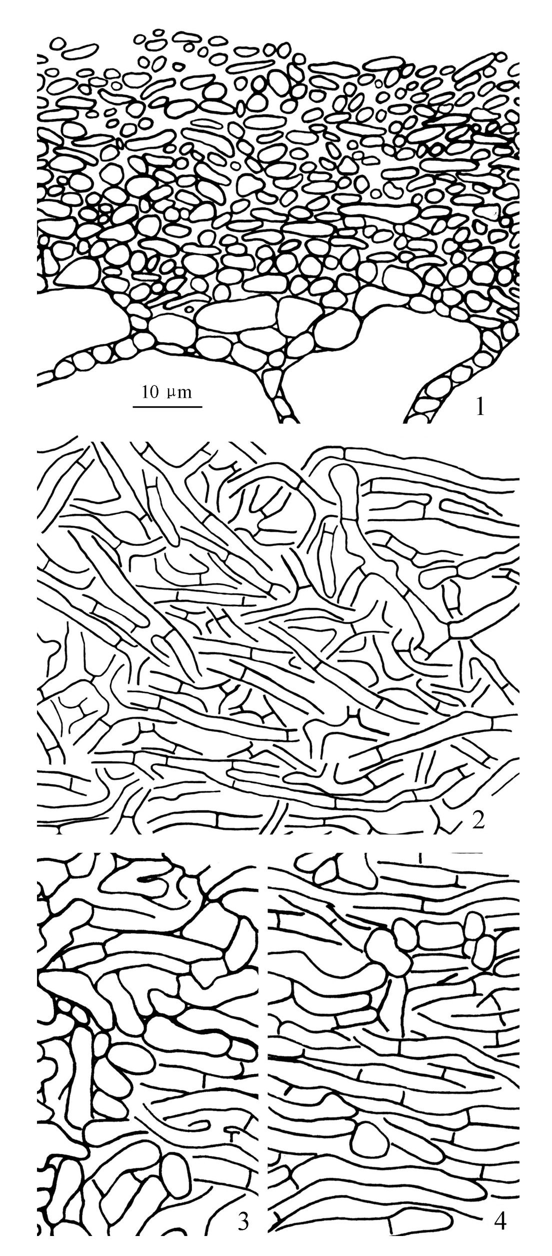



图 3　形态型 2 的解剖结构

1. 横切图；2. 外菌套；3. 中菌套；4. 内菌套

Fig. 3　Anatomy of morphotype 2

1. Transverse section；2. Outer mantle layer；3. Middle mantle layer；4. Inner mantle layer

形态型 3：单轴或二叉状分枝，呈羽状排列，红棕色、棕红色，白色菌丝网包裹菌根（图 1：4）。菌根直径 0.23～0.59 mm，长 1.00～1.25 mm，菌根根尖直径 0.28～0.63 mm，长 1.00～1.23 mm。菌套表面有土壤颗粒附着，有少量外延菌丝；外延菌丝长 10～60 μm，直径 1.0～1.2 μm，表面有土壤颗粒附着或无，菌丝顶端钝。菌套厚 25～33 μm，单宁层厚 2.0～5.0 μm，偶有锥状囊状体（图 4：1）。外菌套为 B 型；菌丝走向无规则，薄壁，直径 0.8～1.5 μm；中菌套 B 型，菌丝直径 2.0～3.2 μm，菌丝走向与菌根纵轴方向一致；内菌套部分菌丝膨大，直径 6.0～6.5 μm，菌丝间细胞壁融合，有形成拟薄壁组织的趋势或形成拟薄壁组织（图 4：2～4）。

形态型4：单轴或二叉状分枝，排列稀疏，浅棕色，红棕色，菌套半透明，皮层可见（图1：5）。菌根直径0.28～0.32 mm，长2.20～2.41 mm，菌根根尖直径0.23～0.30 mm，长1.00～2.35 mm。菌套厚20～29 μm，哈氏网发达，有囊状体。囊状体顶端有2个顶球（图5：1）。外菌套H型，菌丝直径2.5～6.2 μm，菌丝膨大，隔附近膨大现象明显；内菌套菌丝部分膨大，菌丝间有融合现象；中菌套菌丝大多膨大，部分菌丝细胞壁融合现象常见（图5：2～4）。

形态型5：单轴或二叉状分枝，成熟部分呈红棕色，尖端幼嫩部分呈米黄色，灰白色，在植物根系上排列较稀疏，幼嫩时菌套半透明，表面较光滑（图1：6～8）。菌根直径0.25～0.34 mm，

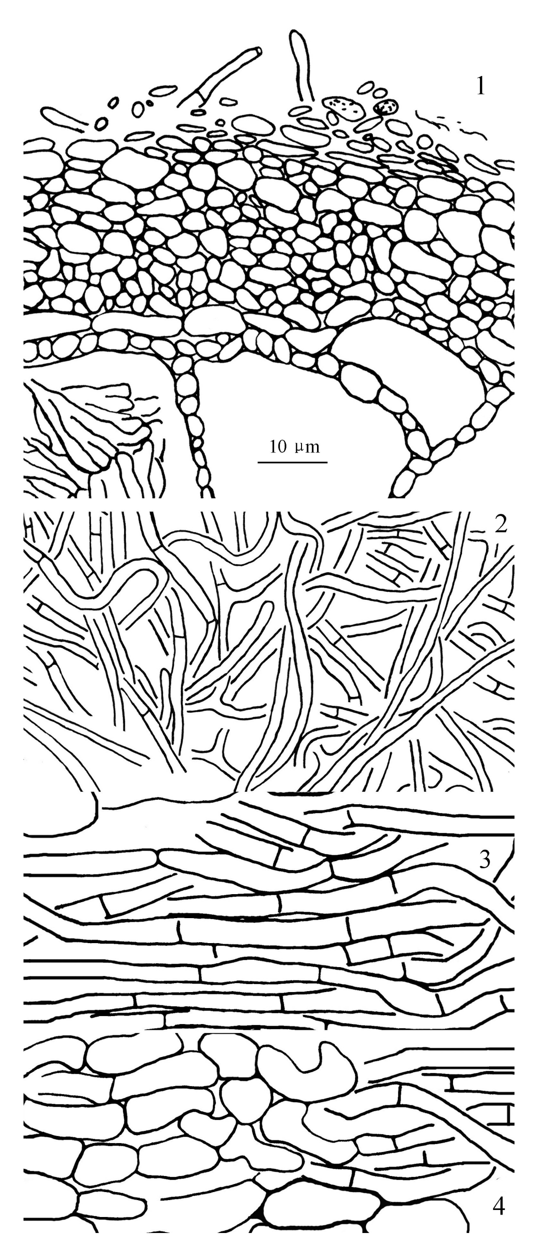



图4 形态型3的解剖结构

1. 横切面；2. 外菌套；3. 中菌套；4. 内菌套

Fig. 4 Anatomy of morphotype 3

1. Transverse section; 2. Outer mantle layer; 3. Middle mantle layer; 4. Inner mantle layer

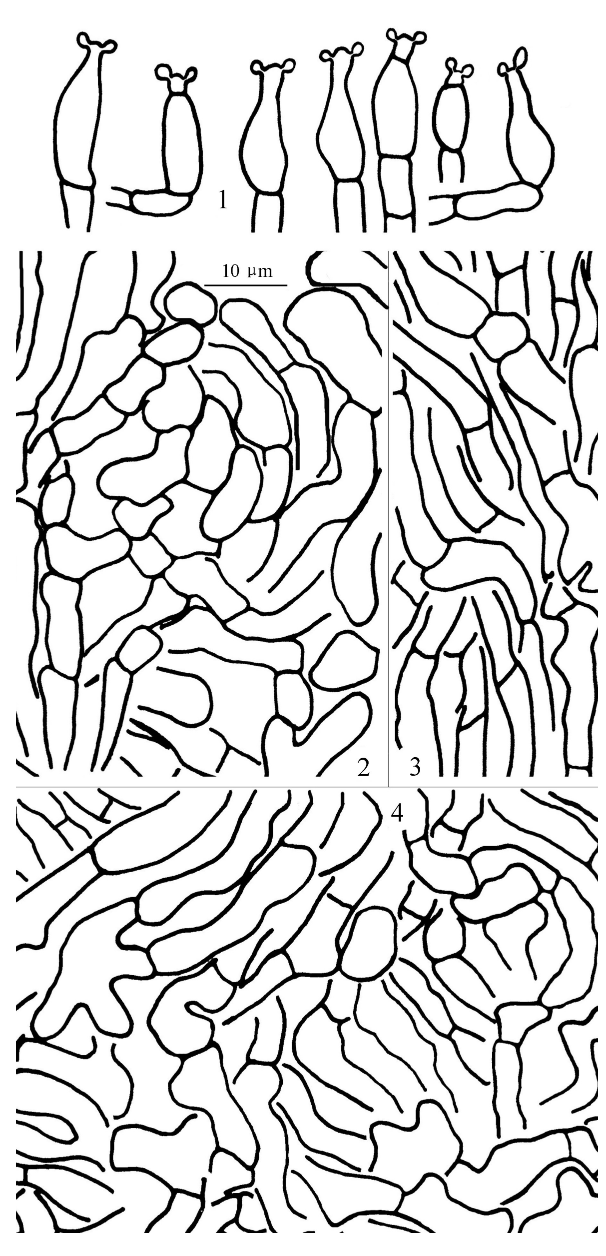



图5 形态型4的解剖结构

1. 囊状体；2. 外菌套；3. 内菌套；4. 中菌套

Fig. 5 Anatomy of morphotype 4

1. Cystidia; 2. Outer mantle layer; 3. Inner mantle layer; 4. Middle mantle layer

长 1.03～1.25 mm，菌根根尖直径 0.17～0.24 mm，长 0.58～0.72 mm。菌套厚 18～26 μm，单宁层厚 4.0～7.0 μm。菌套外有菌丝网（图 6：1），菌丝网菌丝为多角不规则形，直径 3.0～6.5 μm，有膨大现象。外菌套为拟薄壁组织，M 型，拟表皮细胞状，细胞间略有间隙（图 6：2）；内菌套为疏丝组织，部分菌丝有膨大现象，菌丝细胞壁出现部分融合现象（图 6：3）。

形态型 6：菌根单轴或二叉分枝，浅棕色，浅黄棕色（图 1：9）。菌根直径 0.45～0.53 mm，长 0.71～1.11 mm，菌根根尖直径 0.45～0.52 mm，长 0.71～0.92 mm。菌套厚 23～30 μm，单宁层厚 3.0～6.0 μm。外菌套拟薄壁组织，M 型，拟表皮状细胞，细胞间略有间隙（图 7：1）；中菌套拟表皮状细胞比外菌套小，细胞间隙稍大（图 7：2）；内菌套为疏丝组织，菌丝交叉分布呈网状（图 7：3）。

图 6　形态型 5 的解剖结构

1. 菌丝网；2. 外菌套；3. 内菌套

Fig. 6　Anatomy of morphotype 5

1. Hyphal net; 2. Outer mantle layer;

3. Inner mantle layer

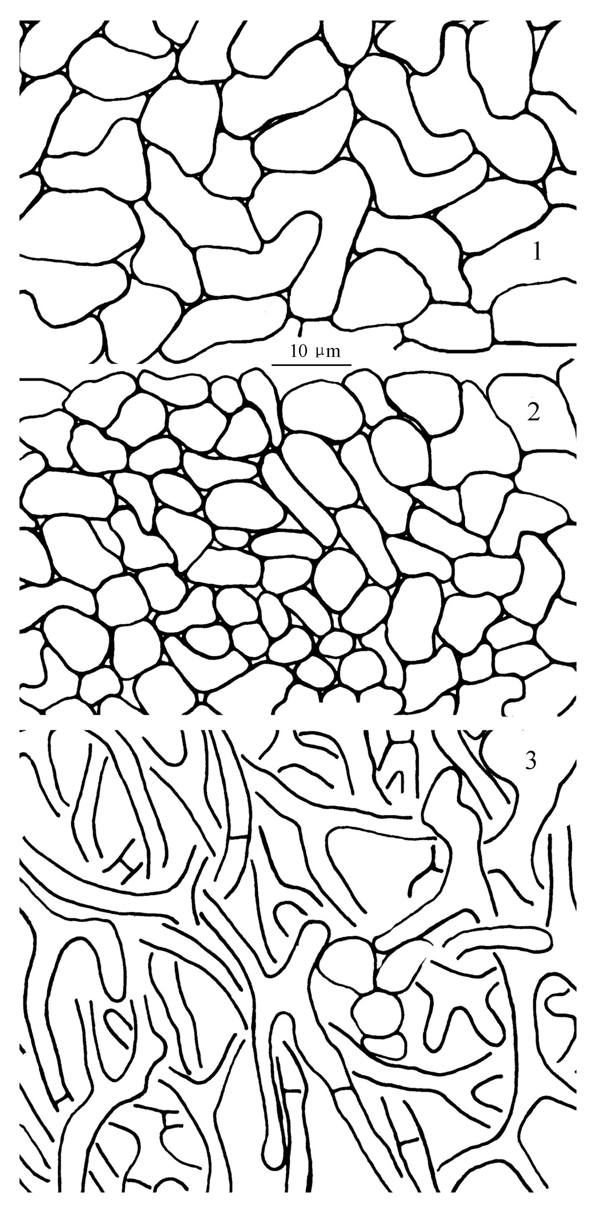



图 7　形态型 6 的菌套

1. 外菌套；2. 中菌套；3. 内菌套

Fig. 7　Mantles of morphotype 6

1. Outer mantle layer; 2. Middel mantle layer;

3. Inner mantle layer

ITS 序列比对得到 6 种亲缘型（phypotypes）（表 1）。由比对结果将形态型 1 鉴定为 *R. livescens* 与云南松形成的菌根；形成其余 5 种形态型的真菌暂鉴定为相似种，即形成形态型 2、3、4、5 和 6 的真菌分别为 *R. violeipes*，*R. nigricans*，*R. densifolia*，*R. sanguinea* 和 *R. nauseosa* 的相似种类。

## 3 讨论

形态学观察识别了 6 种形态型，DNA 序列比对得到 6 种亲缘型，且形态型和亲缘型呈一一对应关系（表 1）。形态型 1 鉴定为 *R. livescens* 的菌根。*R. livescens* 为 *R. insignis* 的异名，Beenken（2004b）详细描述了 *R. insignis* 和 *Quercus rubra* 形成的菌根形态。形态型 1 的形态与 Beenken 的描述基本吻合，但有以下不同：Beenken 描述的囊状体有锥状（awl-shaped）、纺锤状（fusiform）、烧瓶状（bottle-shaped with straight neck）和有单顶球囊状体（with 1 knob）4 种类型，本研究尽管没有观察到单顶球囊状体，但却发现少数囊状体的形态介于锥状与单顶球囊状体之间（图 2：1）。很有可能囊状体尖端顶球由于被触及而脱落（Agerer，2006）。

形态型 2 的真菌序列与来自丹麦的 *R. violeipes* 的子实体序列相似度为 95%，但碱基差异数大于 10。在分子系统树上，*R. violipes* 与 *R. amoenicolora* 位于支持率为 100% 的同一个分支内（Miller and Buyck，2002）。这个分支对应于 Sarnari（1998）系统中的 *Russula* subgen. *Amoenula*。Beenken（2004b）共描述了 *Russula* subgen. *Amoenula* 的 3 个种的菌根：*R. amoenicolor*、*R. amoena* 和 *R. mariae*。形态型 2 的特征与这 3 个种一致，这表明 *Russula* subgen. *Amoenula* 真菌形成的菌根有较稳定的识别特征，即菌套为疏丝组织，仅有锥状囊状体，囊状体无顶球。

对来自形态型 3 与 4 的序列进行的比对表明，其中的真菌种类均为 *Russula* subgen. *Compactae*，其中形态型 3 与日本作者提交的 *R. densifolia* 的子实体序列（AB291761）的相似性（表 1）高于来自德国的 *R. densifolia* 的菌根序列（AF418606，UDB000336）（96%）。依 Beenken（2004b），该亚属的种类形成的菌根的特征为菌套为疏丝组织、囊状体多且有 2 个顶球。形态型 4 的特征进一步表明，这些特征是识别该亚属的可靠特征。由于该菌根样少且状态较差，形态型 3 上未发现双顶球，其原因有可能在于取样时导致了囊状体顶球丢失。

形态型 5 的 4 条 ITS 序列与来自日本松林下的菌根序列（AB250948）最为相似，且最多仅差 5 个碱基对，故形态型 5 中的真菌种类应与 AB250948 的真菌为同种。Matsuda 等（2009）的菌根序列（AB250948）在 GenBank、EMBL 和 DDBJ 中比对结果显示，其最相似序列为 *R. gracillima*（AY061678），但若将其与 UNITE 中的序列进行比对，则最相近的序列为来自英国和瑞典的 *R. sanguinea* 子实体序列（UDB001634、UDB001635，UDB002463 和 UDB000899），而

**表1 各形态型 rDNA ITS 序列的比对结果**

Table 1 Matching results of each morphotype based on rDNA ITS sequences

| 序列号 Assession number | 形态型 Morphotype | 标本编号 Voucher number | 长度 Length (bp) | 最相似种名 Closest species | 最相似序列号 Closest accession number | 碱基差异数 Base differences (bp) | 最大相似度 Maximum identification (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| GU371295 | Morphotype 1 | F0177 | 751 | *R. livescens* | UDB000894 | 3 | 98 |
| GU371297 | Morphotype 1 | G1098 | 684 | *R. livescens* | UDB000894 | 4 | 98 |
| GU371290 | Morphotype 2 | A0543 | 812 | *R. violeipes* | UDB000116 | 16 | 95 |
| GU371296 | Morphotype 3 | G0693 | 387 | *R. densifolia* | AB291761 | 7 | 99 |
| GU371289 | Morphotype 4 | A2032 | 724 | *R. nigricans* | AY228357 | 24 | 96 |
| GU371291 | Morphotype 5 | E0255 | 610 | *R. sanguinea* | AB250948 | 5 | 98 |
| GU371294 | Morphotype 5 | E1271 | 691 | *R. sanguinea* | AB250948 | 4 | 97 |
| GU371292 | Morphotype 5 | E0559 | 739 | *R. sanguinea* | AB250948 | 3 | 97 |
| GU371298 | Morphotype 5 | D3100 | 591 | *R. sanguinea* | AB250948 | 5 | 98 |
| GU371293 | Morphotype 6 | E0866 | 654 | *R. nauseosa* | AB250950 | 8 | 98 |

与 *R. gracillima* 子实体序列（AY061678）的相似度较前四者为低。这一结果与形态型 5 的序列在 UNITE 中的比对结果相同。故将形态型 5 作为 *R. sanguinea* 的相近种更为合适。*Russula sanguinea* 和 *R. gracillima* 在 Sarnari（1998）的分类系统中均属于 *Russula* subsect. *Sardoninae*。通过在云南松林下采集与 *Russula* subsect. *Sardoninae* 的成员相近的子实体标本，并对比子实体与该菌根样的序列之间的异同，这可能是确定该菌根身份的一个途径。

形态型 6 的真菌序列与来自日本松林下的菌根序列（AB250950）最为相似（98%）。Matsuda 等（2009）依据序列 AB250950 与来自欧洲的 *R. laricina*（AY061685）间 97%的相似度将其定为 *R. laricina*。但在 UNITE 中，这一序列与来自英国的 *R. nauseosa* 子实体序列（97%）和来自欧洲的 *R. laricina*（AY061685）子实体序列（97%）具有相同相似度，但前者分值（score＝961）较后者（score＝948）偏高。而来自形态型 6 的序列在 UNITE 中对比的结果也表明，该序列与 *R. nauseosa* 子实体序列的相似度（97%）高于 *R. laricina* 的子实体序列（96%）。综合以上结果，将形态型 6 鉴定为 *R. nauseosa* 的相似种更为合适。与 Beenken（2004b）描述的 *R. nauseosa* 与挪威云杉形成的外生菌根相比，形态型 6 的菌根缺少菌丝网。其原因很可能如 Agerer（2006）认为的那样，红菇属菌套外表有圆形细胞、斗形细胞（cowl-shaped）或菌丝网这一特征通常较模糊，不明显，但也可能是由于共生树种的不同而产生的差异。

与本研究相关的其它尚未发表的研究结果表明，红菇类菌根是云南松幼苗的主要菌根类型。云南松幼苗一般生长于光照水分充足的阳坡、林边或林间空地上，地表土壤与深层矿物质土壤相比其有机营养成分及营养量要丰富，这种环境条件对直接接触型或短距离探索型的红菇类菌根的形成较为有利，这可能是红菇类菌根在云南松幼苗上占优势的原因之一。由于在其它幼苗上报道的红菇类菌根的研究结果较少，很难就不同种类的幼苗间进行对比。若与仅有的研究结果，如 Ingleby 等（1998）在娑罗双属 *Shorea parvifolia* 幼苗（5 种红菇类菌根）和 Southworth and Carrington（2009）在 *Quercus garryana* 幼苗（1 种红菇类菌根）的研究相比，云南松幼苗形成的红菇类真菌的绝对数目最多。

于富强等（2005，2007）报道在云南松林下红菇属真菌共计 32 种，这其中仅有 *R. nauseosa* 和 *R. nigricans* 在本研究中得到了一定程度的证实。同时从 ITS 序列比对结果发现，本研究 ITS 序列比对到的最相似序列大多为来自欧洲的子实体序列，通常碱基差异较大，只能作为这些欧洲种类的相似种处理；而当最相似序列为来自亚洲（日本、泰国、韩国等）的子实体或菌根序列时，碱基差异小，应为同一种真菌，但序列只能鉴定为未知种。这些结果表明，在云南松林下，红菇属真菌的多样性很可能并不如原来认为的由原初描述自欧洲的种类构成，而是由分布于亚洲地区的特有种类构成。亚洲红菇属真菌在分类学上的真实面貌还有待认识。在今后的工作中，除应在菌根的形态和分子鉴定上取得更多的证据外，有针对地对云南松林下红菇属真菌的子实体进行物种确认也将是理解红菇属真菌菌根物种多样性的重要途径。

**致谢**　中国科学院昆明植物所王向华博士在显微观察和绘图方面的悉心指导及论文初稿的审阅和修改。

## 〔参　考　文　献〕

金振洲，彭鉴，2004. 云南松［M］. 昆明：云南科学技术出版社

Agerer R，1987－2006. Colour Atlas of Ectomycorrhizae［M］. Einhorn-Verlag，Schwäbisch Gmünd

Agerer R，1991. Characterization of ectomycorrhiza［J］. *Methods in Mycrobiology*，**23**：26—65

Agerer R，2001. Exploration types of ectomycorrhizae：a proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance［J］. *Mycorrhiza*，**11**：107—114

Agerer R，2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae［J］. *Mycological Progress*，**5**（2）：67—107

Beenken L，2004a. Les ectomycorhizes du genre *Russula*［J］. *Bulletin of Society mycology of France*，**120**（1－4）：293—333

Beenken L，2004b. Die Gattung *Russula* Untersuchungen zu ihrer Systematik anhand von Ektomykorrhizen［M］. dissertation zur erlangung des grades eines doktors，der Naturwissenschaften，der Fakultät Biologie，der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dai KJ (戴开结), Shen YX (沈有信), Zhou WJ (周文君) *et al*., 2005. Rhizosphere pH of *Pinus yunnanensis* Franch. and rhizosphere pH of *P. yunnanensis* seedlings at different phosphrous rates [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), **25** (12): 2490—2494

Dai KJ (戴开结), He F (何方), Shen YX (沈有信) *et al*., 2009. Effects of different phosphorus on growth and P absorption of *Pinus yunnanensis* Franch. seedlings [J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **29** (8): 4078—4083

Deng Y (邓云), Guan HL (官会林), Dai KJ (戴开结) *et al*., 2006. Effects of phosphorus supply on seedling morphology and organic acids exudation of *Pinus yunnanensis* [J]. *Journal of Yunnan University* (云南大学学报), **28** (4): 358—363

Gao YQ (高永茜), Zhou YH (周跃华), Tian K (田昆) *et al*., 2009a. Cultivating *Pinus yunanensis* seedlings with bagasse substrates [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报), **26** (4): 598—602

Gao YQ (高永茜), Zhou YH (周跃华), Zheng W (郑畹) *et al*., 2009b. Seedling raising experimental study on *Pinus yunnanensis* of different families [J]. *Journal of West China Forestry Science* (西部林业科技), **38** (2): 47—52

Gardes M, Bruns D, 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rust [J]. *Molecular Ecology*, **2**: 113—118

Gardes M, Bruns TD, 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views [J]. *Canadian Journal of Bonaty*, **74**: 1572—1583

Haug I, Weiß M, Homeier J *et al*., 2005. Russulaceae and thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the nyctaginaceae (Caryophyllales) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador [J]. *New Phytologist*, **165**: 923—936

Horton TR, Bruns TD, 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box [J]. *Molecular Ecology*, **10**: 1855—1871

Ingleby K, Munro RC, Noor M *et al*., 1998. Ectomycorrhizal populations and growth of *Shorea parvifolia* (Dipterocarpaceae) seedling regenerating under three different forest canopies following logging [J]. *Forest Ecology and Management*, **111**: 171—179

Kõljalg U, Larsson KH, Abarenkov K *et al*., 2005. UNITE: A database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi [J]. *New Phytologist*, **166**: 1063—1068

Li GX (李贵祥), Shi HJ (施海静), Meng GT (孟广涛) *et al*., 2007. Community structural properties and species diversity in primary *Pinus yunnanensis* forest [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报), **24** (4): 396—400

Liu DY (刘代亿), LI GQ (李根前), Zheng W (郑畹) *et al*., 2008. Discussion on key problems of excellent clone selection of *Pinus yunnanensis* at early stage [J]. *Forest Inventory and Planning* (林业调查规划), **33** (3): 67—72

Matsuda Y, Noguchi Y, Ito SI, 2009. Ectomycorrhizal fungal community of natually regenerated *Pinus thunbergii* seedlings in a coastal pine forest [J]. *Japan of Forestry Research*, **14**: 335—341

Miller SL, Buyck B, 2002. Molecular phylogeny of the genus *Russula* in europe with a comparison of modern infrageneric classifications [J]. *Mycological Research*, **106** (3): 259—276

Nuñez MA, Horton TR, Simberloff D, 2009. Lack of belowground mutualisms hinders Pinaceae invasions [J]. *Ecology*, **90** (9): 2352—2359

Rathnayake AP, Kadono H, Toyooka S *et al*., 2008. A novel optical interference technique to measure minute root elongations of Japanese red pine (*Pinus densiflora* Seibold & Zucc.) seedings infected with ectomycorrhizal fungi [J]. *Environmental and Experimental Botany*, **64**: 314—321

Sarnari M, 1998. Monografia Illustrata del Genre *Russula* in Europa [M]. Tomo primo, Associazione Micologica Bresadola, Trento

Shimono Y, Kato M, Takamatsu S, 2004. Molecular phylogeny of Russulaceae (Basidiomycetes; Russulales) inferred from the nucleotide sequences of nuclear large subunit rDNA [J]. *Mycoscience*, **45**: 303—316

Sonthworth D, Carrington EM, 2009. Mycorrhizas on nursery and field seedlings of *Quercus garryana* [J]. *Mycorrhiza*, **19**: 149—158

Tedersoo L, Jairus T, Horrton BM *et al*., 2008. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcording and taxon-specific primer [J]. *New Phytologist*, **180**: 479—490

Yu FQ (于富强), Liu PG (刘培贵), 2005. Species diversity of wild edible mushrooms from *Pinus yunnanensis* forests and conservation strategies [J]. *Biodiversity Science* (生物多样性), **13** (1): 58—69

Yu FQ (于富强), Xiao YQ (肖月芹), Liu PG (刘培贵), 2007. Spatiotemporal distribution of ectomycorrhizal fungi in *Pinus yunnanensis* forests [J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **27** (6): 2305—2333

Zhang YM (张跃敏), Li GQ (李根前), Li LF (李莲芳) *et al*., 2008. The growth characterstics of *Pinus yunnanensis* and improvement measures [J]. *Shanxi Forest Science and Techology* (陕西林业科技), (3): 4—7

Zhang YM (张跃敏), Li GQ (李根前), Li LF (李莲芳) *et al*., 2009. Fertilization effect of nitrogen combination with phosphorus on seedling growth of *Pinus yunnanensis* [J]. *Journal of Southwest Forestry University* (西南林学院学报), (3): 5—10

Zhong K (仲凯), Liu HX (刘红霞), 2008. The new characters and application of mycorrhizal studies [J]. *Ecological Sciences* (生态科学), **27** (3): 169—178